KINETISCHE STUDIEN MIT DIGOXIN UND ß-METHYLDIGOXIN BEI ISOLIERT PERFUNDIERTEN RATTENLEBERN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu
BONN

vorgelegt von

WOLFGANG GREULICH

aus

KARLSRUHE

BONN 1980

KINETISCHE STUDIEN
MIT DIGOXIN UND ß-METHYLDIGOXIN
BEI ISOLIERT PERFUNDIERTEN RATTENLEBERN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu
BONN

vorgelegt von

WOLFGANG GREULICH

aus

KARLSRUHE

BONN 1980

Angefertigt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. H.J. Dengler
2. Gutachter: Prof. Dr. U. Schwabe

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Bonn-Venusberg
Direktor: Prof. Dr. H.J. Dengler

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Druck: Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG..... 4

METHODIK..... 6
I. Substanzen..... 6
II. Versuchstiere..... 6
III. Durchführung der Versuche..... 7
1. Methode zur Perfusion isolierter Rattenleber..... 7
a) Apparative Ausrüstung..... 7
b) Perfusionsmedium..... 8
c) Operatives Vorgehen..... 8
d) Funktionsuntersuchungen..... 8
2. Versuche mit Digoxin..... 9
3. Versuche mit β-Methyldigoxin..... 10
IV. Weiterverarbeitung der Proben..... 10
1. Bestimmung des Glykosidgehalts von Perfusat, Galle, Homogenat und Nachperfusat..... 10
2. Bestimmung des Tritiumwassers (HTO)..... 11
3. Bestimmung der Proteinbindung..... 11
4. Aufarbeitung von Perfusat, Galle,. Homogenat und Nachperfusat..... 12
V. Dünnschichtchromatographische Auswertung..... 12
VI. Mathematische Auswertung..... 13

ERGEBNISSE..... 17
I. Versuche mit Digoxin..... 17
1. Kinetik..... 17
2. Stoffwechseluntersuchungen..... 35
II. Versuche mit β-Methyldigoxin..... 44
1. Kinetik..... 44
2. Stoffwechseluntersuchungen..... 57

DISKUSSION..... 65

ZUSAMMENFASSUNG..... 92

LITERATUR..... 94

EINLEITUNG

Obwohl Digoxin schon seit etwa 200 Jahren in der Therapie von Herzerkrankungen eingesetzt wird, hat man sich Untersuchungen über das Schicksal dieser Arzneimittelgruppe erst in den letzten 30 Jahren zugewandt.

Aufgrund von tierexperimentellen Studien kam Repke (1958, 1959 a, b) zu dem Schluß, daß der wichtigste Entgiftungsweg für Digitoxin mit der stufenweisen Abspaltung der Digitoxosen eingeleitet wird. In einem weiteren Schritt erfolgt nach Epimerisierung der OH-Gruppe an C_3 die Konjugation des Genins und Epigenins mit Schwefelsäure und Glukoronsäure (Herrmann und Repke, 1962, 1963).

In gleicher Weise vollzieht sich der schrittweise Abbau von Digoxin, wie die in vitro und in vivo ermittelten Ergebnisse bei der Ratte zeigen (Cox und Wright, 1959; Lauterbach und Repke, 1960; Wright, 1960; Herrmann und Repke, 1962, 1963; Wong und Spratt, 1964; Lage und Spratt, 1965, 1968; Repke, 1970; v. Bergmann et al., 1972).

Die am Versuchstier erhobenen Befunde werden heute weitgehend auch als gültig für den metabolischen Abbau der Digitalisglykoside beim Menschen erachtet (Doherty et al., 1961, 1968; Marcus et al., 1964; Lüllmann et al., 1971; Rietbrock et al., 1972, 1973; Grosse-Brockhoff und Hausamen, 1975).

Als Ort der Metabolisierung von Herzglykosiden wird nach Cox und Wright (1959) sowie Okita et al. (1955) die Leber angesehen. Abel et al. (1965) konnten zwar beim Hund nachweisen, daß auch andere Organe, wie zum Beispiel die Niere, am Abbauprozeß beteiligt sind. Hierdurch wird die Leber als die wichtigste Entgiftungsstelle für Digitalisglykoside jedoch nicht in Frage gestellt, da gerade die für die Spaltung der Desoxyzucker benötigten Fermente ihren weitaus höchsten Gehalt in diesem Organ haben (Lauterbach und Repke, 1960).

Da die Leber darüberhinaus die Fähigkeit besitzt, Herzglykoside auch unverändert zu speichern (Kolenda et al., 1971; Wagner, 1974), fällt ihr bei oraler Verabreichung von Digitalisglykosiden eine besondere Bedeutung zu.

Wenn auch bereits zahlreiche Untersuchungen über den Einfluß des in der Leber stattfindenden Metabolismus von Herzglykosiden auf die Bioavailability oraler Digitalisapplikationen vorliegen, so fehlt es noch immer an entsprechenden kinetischen Aussagen über die Fähigkeit der Leber, unveränderte Substanz zu akkumulieren.

Das Ziel unserer Untersuchungen bestand daher in der Gewinnung eines Modells, mit dem Kinetik und Ausmaß des in der Leber unverändert festgehaltenen Digoxins und β-Methyldigoxins bestimmt werden können. Um mögliche interferierende Verteilungs-, Stoffwechsel- und Eliminationsprozesse auszuschließen, führten wir die Versuche an isolierten Rattenlebern durch.

METHODIK

I. Substanzen

Von der Firma New England Nuclear Corporation, Waltham, Mass., USA, stand NET-293 Digoxin, 12α-^{3}H(N), in einer Äthanol/Benzol Lösung (9:1) zur Verfügung. Die spezifische Aktivität betrug 12,81 µCi/µg.
Für die Versuche mit β-Methyldigoxin verwendeten wir 12α-^{3}H-β-Methyldigoxin der Firma Boehringer, Mannheim, Charge Nr. 806802 A. Dieses Präparat, dessen spezifische Aktivität 394,39 µCi/mg betrug, lag in alkoholischer Lösung in einer Konzentration von 0,2 mg/2ml vor.

Zur dünnschichtchromatographischen Analyse benötigten wir folgende Kaltsubstanzen der Firma Boehringer, Mannheim: Digoxin, β-Methyldigoxin, Digoxigenin-bis-digitoxosid, Digoxigenin-mono-digitoxosid, Digoxigenin und Dihydrodigoxigenin.

Sämtliche Substanzen wurden vor Versuchsbeginn dünnschichtchromatographisch auf ihren Reinheitsgrad geprüft.

II. Versuchstiere

Als Organspender wurden für alle Versuche gesunde, männliche Wistar-Ratten (SPF-Ratten, Zentralinstitut für Versuchstierzucht, Hannover-Linden) im Alter von 8 - 10 Wochen verwendet. Bei einem Körpergewicht von 280 - 300 g betrug das durchschnittliche Lebergewicht 10 g.

III. Durchführung der Versuche

1. Methode zur Perfusion einer isolierten Rattenleber

a) Apparative Ausrüstung

Für die isolierte, nicht zyklische Leberperfusion wurde eine Apparatur in Anspruch genommen, deren Prinzip Höller und Breuer (1974) beschrieben haben (Abb. 1).

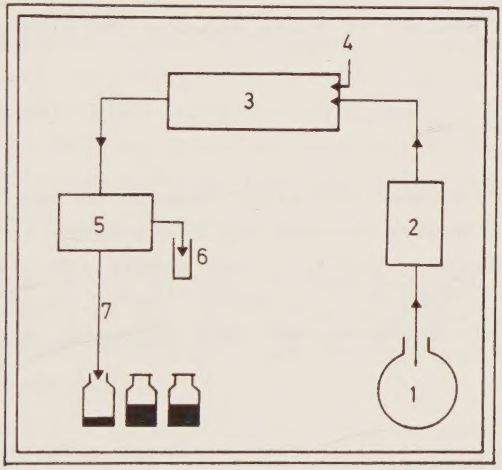


Abb. 1: Prinzip der isolierten, nicht zyklischen Leberperfusion. Erläuterung: 1 = Reservoir, 2 = Rollenpumpe, 3 = Oxygenator, 4 = Carbogenzufuhr, 5 = Leber, 6 = Abfluß der Galle, 7 = Abfluß aus der Vena cava.

Hierbei fließt das Perfusionsmedium mit Hilfe einer Rollenpumpe (2) aus dem Reservoir (1) in den Oxygenator (3), wo es mit dem zuvor angewärmten und mit Wasserdampf gesättigten Carbogen (4), einem Gasgemisch aus 95 % O_2 und 5 % CO_2, angereichert wird. Von dort gelangt es mit einem hydrostatischen Druck

von 200 mm, der sich aufgrund der Höhendifferenz zwischen Oxygenator und Organ ergibt, über die Portalvene in die Leber (5). Die während der Perfusion sezernierte Galle wird über einen PE-50-Schlauch im Ductus choledochus in einem Kapillarröhrchen gesammelt (6).
Ein Katheterschlauch (PE 260) in der Vena cava inferior ermöglicht, das venöse Medium bei einer Flußrate von 2 ml/g/min, die fortlaufend anhand eines elektromagnetischen Flußmeßgerätes kontrolliert wird, in einzelnen Fraktionen aufzufangen (7).
Um eine konstante Temperatur von 28° C und eine mit Wasserdampf gesättigte Luft zu gewährleisten, befindet sich die gesamte Perfusionsanlage in einem Gehäuse aus Plexiglas.

b) Perfusionsmedium

Das für die Perfusionen bei einer Temperatur von 28° C gewählte, hämoglobinfreie Medium bestand aus Krebs-Henseleit-Puffer (Krebs und Henseleit, 1932), in dem zusätzlich 5,5 mmol/l Glucose, 0,3 mmol/l Pyruvat, 2,0 mmol/l Lactat, 0,05 mmol/l Oxalacetat und 35 g/l Rinderserumalbumin (Behring, Marburg) enthalten waren.

c) Operatives Vorgehen

Nach intraperitonealer Anaesthesie mit Pentobarbital (50 mg/kg Körpergewicht) erfolgte die Entnahme der Leber entsprechend der Beschreibung von Höller und Breuer (1974). Anschließend wurde die Leber etwa 4 - 5 Minuten lang mit albuminfreier Lösung durchspült, danach gewogen und an das Perfusionssystem angeschlossen.

d) Funktionsuntersuchungen

Während der Perfusionen fanden in regelmäßigen Abständen Kontrollen folgender für die Funktion des Organs entscheidender Para-

meter statt: des Sauerstoffdruckes und der Wasserstoffionenkonzentration im arteriellen und venösen Medium, des Sauerstoffpartialdruckes an der Organoberfläche sowie des Lactat-Pyruvat-Quotienten im Perfusionsmedium.

2. Versuche mit Digoxin

Bei 5 Versuchen wurden die Leber verschieden lang (Tab. 2, Teil 4) mit digoxinhaltiger Lösung einer mittleren Konzentration von 0,89 µg/ml, wovon 0,035 µg/ml radioaktiv markiert waren, perfundiert. Die Konzentrationswerte ermittelten wir jeweils zu Versuchsbeginn durch die Entnahme von 1 ml Perfusionsmedium (Tab. 2, Teil 3). Für die Dauer der Digoxinperfusionen wurde das ausfließende Medium (Perfusat) in Ein-Minuten-Intervallen gesammelt.

Dementsprechend erfolgten zwei weitere Versuche mit Digoxin, bei denen wir eine um das fünfzigfach kleinere Konzentration wählten. In diesen Fällen enthielt das Perfusionsmedium ausschließlich ^{3}H-Digoxin.

Um eine Aussage über die Bindungsfestigkeit des einmal gespeicherten Glykosids zu erhalten, folgte auf die eigentliche Digoxinperfusion eine unterschiedlich lange Durchströmung mit glykosidfreier Lösung. Auch während dieser Phase wurde das ausfließende Medium (Nachperfusat) in Perioden von einer Minute aufgefangen. Zur Bestimmung des mit der Galle ausgeschiedenen Glykosidanteils floß während des gesamten Versuchsablaufes die von der Leber sezernierte Galle in ein Kapillarröhrchen ab.

Am Ende jeder Perfusion wurde die Leber, um ein eventuell entstandenes Ödem feststellen zu können, erneut gewogen und anschließend mit Hilfe eines Ultra Turax (Janke und Kunkel, Staufen im Breisgau) in 85 % Äthanol homogenisiert. Das auf diese Weise gewonnene Homogenat zentrifugierten wir 10 min lang und

nahmen den Überstand nach mehrmaligem Waschen in 85 % Äthanol in einem Glaskolben auf, worauf er ebenso wie die Galle und die Einzelfraktionen von Perfusat und Nachperfusat eingefroren wurde.

3. Versuche mit β-Methyldigoxin

Mit gleicher Zielsetzung, wie bei den 7 vorangegangenen Digoxinperfusionen, wurde die Speicherung von β-Methyldigoxin anhand von 4 Perfusionen untersucht. Bei zweien betrug die Konzentration im Mittel 0,90 µg/ml, wovon 0,36 µg/ml radioaktiv markiert waren (Tab. 5, Teil 3). Der restliche Anteil bestand aus kaltem Glykosid.

Für die beiden anderen Perfusionen wurde ausschließlich markiertes β-Methyldigoxin in einer Konzentration von 0,08 µg/ml verwendet.

Bei allen 4 Versuchen perfundierten wir 20 min lang mit glykosidhaltiger Lösung und spülten dann 15 min lang mit glykosidfreiem Medium nach. Entsprechend den Digoxinperfusionen wurden Perfusat, Galle, Homogenat und Nachperfusat gewonnen und bis zur weiteren Analyse eingefroren.

IV. Weiterverarbeitung der Proben

1. Bestimmung des Glykosidgehalts von Perfusat, Galle, Homogenat und Nachperfusat

Nach erfolgter Volumenbestimmung der Einzelfraktionen von Perfusat und Nachperfusat sowie von Galle und Homogenat, führten wir die Messung der Radioaktivität in einem Flüssigkeitsszin-

tillationsspektrometer (Packard-Tri-Carb-Modell 3310) durch. Die Zählraten wurden mit Hilfe eines externen Standards korrigiert und unter Berücksichtigung der jeweiligen spezifischen Aktivität auf den Glykosidgehalt der einzelnen Proben umgerechnet. Als Szintillationsflüssigkeit dienten 16 ml Insta-Gel (Packard Instrument Company), denen 0,05 ml Medium, bzw. Galle und Homogenat, zugegeben wurden. Alle Proben wurden doppelt und 10 min lang gezählt.

2. Bestimmung des Tritiumwassers (HTO)

Von Perfusat, Galle, Homogenat und Nachperfusat wurden jeweils 1 ml gefriergetrocknet. Die Messung des auf diese Weise abgetrennten und in einer Kühlfalle aufgefangenen Tritiumwassers erfolgte in Bray'schem Szintillator.

3. Bestimmung der Proteinbindung

Die Proteinbindung von Digoxin und 8-Methyldigoxin führten wir mittels Gleichgewichtsdialyse in einem, durch semipermeable Membran (Dianorm^{R}) getrennten, Zwei-Kammersystem durch. Dabei wurde eine glykosidhaltige, 3,5 %ige Albuminlösung aus Krebs-hydrogenkarbonatpuffer 8 Stunden lang bei 28^{o} C und gleichmäßiger Drehung gegen reinen Puffer dialysiert. Die entsprechenden Digitaliskonzentrationen betrugen im Falle von Digoxin 0,89 ug/ml, bzw. 0,02 ug/ml und für 8-Methyldigoxin 0,90 ug/ml, bzw. 0,08 ug/ml.

4. Aufarbeitung von Perfusat, Galle, Homogenat und Nachperfusat

Zur Extraktion der im Perfusat und Nachperfusat enthaltenen Glykoside wurden von jeder zweiten Mediumfraktion 5 ml mit dem 4-fachen Volumen Dichlormethan 20 min lang mit einem Magnetrührer in einer Schüttelflasche gerührt. Nach 10 minutigem Zentrifugieren bestimmten wir die ^{3}H-Aktivität in der wässrigen Phase und evaporierten die Dichlormethanphase. Die gewonnenen Extrakte wurden zunächst in 3 ml Methanol-Dichlormethan (1:1) aufgenommen, bevor wir sie in ein Spitzröhrchen pippetierten und wiederum eindampften.

Die von der Leber während der Perfusion und Nachperfusion sezernierte Galle wurde mit destilliertem Wasser zu einem Volumen von 5 ml ergänzt und anschließend in der oben beschriebenen Weise extrahiert.

Um die im Homogenat enthaltenen Glykoside extrahieren zu können, wurde der nach 10 minutigem Zentrifugieren gewonnene Überstand unter Vakuum zur Trockne gebracht und in 50 ml destilliertem Wasser aufgenommen. Davon dampften wir 40 ml erneut ein, brachten den evaporierten Extrakt in 20 ml Wasser zur Lösung und extrahierten nach der schon beschriebenen Methode in Fraktionen zu je 5 ml.

V. Dünnschichtchromatographische Auswertung

50 µl der aus Perfusat, Galle Homogenat und Nachperfusat gewonnenen und in Dichlormethan-Methanol (1:1) aufgenommenen Extrakte wurden mittels Hamilton-Spritze auf DC-Alufolien Kieselgel 60 (0,2 mm Schichtdicke, 20 x 20 cm, Fa. Merck) aufgetragen. Parallel zu den markierten Glykosiden liefen die nicht radioaktiven Referenzsubstanzen.

Als Fließmittel diente zum einen ein Gemisch aus Chloroform, Methanol und Wasser im Verhältnis 9 / 9,25 / 0,75 (I). Zum anderen verwendeten wir eines (II), das sich aus 1 Teil Ammoniak, 20 Teilen Aceton, 30 Teilen Cyclohexan und 50 Teilen Essigsäureäthylester zusammensetzte.

Die radioaktiven Zonen lokalisierten wir mit einem Dünnschichtscanner (Fa. Berthold, Modell LB 25602) und verglichen sie mit den Stellen der Referenzsubstanzen. Dies ermöglichte ein von Kaiser (1955) beschriebenes Verfahren mit Chloramin T und Trichloressigsäure, wozu 4 Teile 25 %ige Trichloressigsäurelösung in 96 vol %igem Äthanol und 1 Teil 3 %ige wäßrige Chloramin-T-Lösung verwendet wurden. Die mit diesem Spray besprühten Folien wurden 7 min lang im Trockenschrank bei 110° C erhitzt. Danach zeigten sich die entsprechenden Stellen unter UV-Licht blauviolett. Die quantitative Analyse der radioaktiven Verteilung erfolgte mittels automatischer Integration (Fa. Berthold, Modell LB 241K).

Um die an der Auftragstelle liegengebliebene Aktivität weiter untersuchen zu können, wurden die entsprechenden Stellen der Alufolien ausgeschnitten, in Äthanol aufgeschwemmt und ausgerührt. Nach 10 minutigem Zentrifugieren evaporierten wir den Überstand, der anschließend in 0,1 ml Äthanol aufgefangen und rechromatographiert wurde.

VI. Mathematische Auswertung

Die Bestimmung der pharmakokinetischen Parameter erfolgte in der Weise, daß zunächst die Konzentrationswerte c(t') des in der Nachperfusionsperiode (t') ausfließenden Mediums durch nicht lineare Regression mit Hilfe eines Mikro-Computer-Programms (Olivetti, P 652) approximiert wurden. Zur Annäherung erwies

sich dabei die Summe zweier Exponentialtermen der Form

$$c(t') = A_1 e^{-\gamma_1 t'} + A_2 e^{-\gamma_2 t'} \qquad \text{(Gl. 1)}$$

am geeignetsten. A_1 und A_2 sind Konzentrationsinterzepte zur Zeit $t' = 0$, γ_1 und γ_2 reziproke Zeitkonstanten. Die mittlere Konzentration des während einer Minute ausfließenden Mediums wurde als die Konzentration zum Zeitpunkt

$$t' = \text{Perfusionsminute} - 0{,}5 \qquad \text{(Gl. 2)}$$

angenommen. Unter Verwendung der von Loo und Riegelmann (1970) für den Fall einer intravenösen Dauerinfusion erstellten Gleichung (Gl. 28, S. 68) und durch Substitution von A_1 und A_2 durch A' und B' sowie von γ_1 und γ_2 durch α und β in Gleichung 1 ergeben sich Koeffizienten der Form

$$A = \frac{A'\alpha\tau}{1 - e^{-\alpha\tau}} \; ; \quad B = \frac{B'\beta\tau}{1 - e^{-\beta\tau}} \qquad \text{(Gl. 3 und 4)}$$

(τ = Dauer der Digitalisperfusion)

mit deren Hilfe die pharmakokinetischen Parameter in folgender Weise ermittelt werden konnten (Wagner und Northam, 1967; Riegelmann et al., 1968; Mayersohn und Gibaldi, 1971; Jusko und Gibaldi, 1972; Sidell et al., 1972; Gillette, 1973; Perrier und Gibaldi, 1973; Greenblatt und Koch-Weser, 1975; Wagner, 1975):

Transferkonstante für den Umsatz vom peripheren zum zentralen Kompartiment:

$$K_{21} = \frac{A\beta + B\alpha}{A + B} \qquad \text{(Gl. 5)}$$

Eliminationskonstante:

$$K_{el} = \frac{\alpha\beta}{K_{21}} \qquad \text{(Gl. 6)}$$

$$K_{el} = \frac{\alpha\beta(A + B)}{A\beta + B\alpha} \qquad \text{(Gl. 7)}$$

Transferkonstante für den Umsatz vom zentralen zum peripheren Kompartiment:

$$K_{12} = \alpha + \beta - K_{el} - K_{21} \qquad \text{(Gl. 8)}$$

$$K_{12} = \frac{AB(\alpha-\beta)^2}{(A + B)(A\beta + B\alpha)} \qquad \text{(Gl. 9)}$$

Volumen des zentralen Kompartiments:

$$V_1 = \frac{D}{A + B} \qquad \text{(Gl. 10)}$$

Volumen des peripheren Kompartiments:

$$V_2 = \frac{K_{12}\, V_1}{K_{21}} \qquad \text{(Gl. 11)}$$

$$V_2 = \frac{D}{A + B} \cdot \frac{AB(\alpha - \beta)^2}{(A\beta + B\alpha)^2} \qquad \text{(Gl. 12)}$$

Verteilungsvolumen im Pseudoverteilungsgleichgewicht:

$$Vd_\beta = \frac{\alpha D}{A\beta + B\alpha} \qquad \text{(Gl. 13)}$$

Verteilungsvolumen im staedy-state:

$$Vd_{ss} = V_1 + V_2 \qquad \text{(Gl. 14)}$$

$$Vd_{ss} = \frac{(K_{21} + K_{12})V_1}{K_{21}} \qquad \text{(Gl. 15)}$$

$$Vd_{ss} = \frac{D(A\beta^2 + B\alpha^2)}{(A\beta + B\alpha)^2} \qquad \text{(Gl. 16)}$$

Halbwertzeit der Verteilungsphase:

$$t_{1/2_\alpha} = \frac{0{,}693}{\alpha} \qquad \text{(Gl. 17)}$$

Halbwertzeit der Eliminationsphase:

$$t_{1/2_\beta} = \frac{0{,}693}{\beta} \qquad \text{(Gl. 18)}$$

Clearance:

$$Cl = V_1 K_{el} \qquad \text{(Gl. 19)}$$

$$Cl = \frac{D}{\int_0^\infty c(t)dt} = \frac{D}{\frac{A}{\alpha} + \frac{B}{\beta}} = \frac{D}{AUC} \qquad \text{(Gl. 20)}$$

$$Cl = \frac{\alpha\beta D}{A\beta + B\alpha} \qquad \text{(Gl. 21)}$$

$$Cl = \beta \cdot Vd_\beta \qquad \text{(Gl. 22)}$$

ERGEBNISSE

I. Versuche mit Digoxin

1. Kinetik

Bei einer mittleren Digoxinkonzentration des Perfusionsmediums von c_o = 0,89 µg/ml lag der von der Leber gespeicherte Glykosidanteil, der sich zum einen aus der Differenz von Angebot und Summe aus Perfusat und Galle und zum anderen aus der Summe von Homogenat und Nachperfusat ergab, zwischen 14,43 % (Perfusion 4) und 27,46 % (Perfusion 1) eines Angebots von 281,08 µg, bzw. 238,39 µg. Auf das Perfusat fielen 84,94 %, bzw. 71,45 %.

Die während der 10 min, bzw. 6 min dauernden Nachperfusion wieder abgegebene Glykosidfraktion betrug 11,91 %, bzw. 18,01 %. Der Anteil, der bei diesen Digoxinversuchen mit der Galle eliminiert wurde, lag im Mittel bei 0,62 %, wobei sich kein Zusammenhang mit der Perfusionsdauer erkennen ließ. Die Werte der nicht genannten Perfusionen sind in Tabelle 1 enthalten und darüberhinaus in Abbildung 2 graphisch dargestellt.

Bei den mit einer um das fünfzigfach kleineren Konzentration durchgeführten Versuchen betrug der retinierte Glykosidanteil 53,51 % (Perfusion 7) und 59,92 % (Perfusion 6) eines Angebots von 7,63 µg, bzw. 6,80 µg (Tab. 1 und Abb. 2). Davon wurden während der 16 min, bzw. 14 min dauernden Perfusion mit glykosidfreier Lösung 24,98 %, bzw. 27,96 % ausgeschieden; 28,53 %, bzw. 31,96 % verblieben in der Leber. Für die Galle ergab sich bei den Versuchen mit niedriger Konzentration ein Anteil von 1,82 % (Perfusion 7) und 2,50 % (Perfusion 6).

Anhand der Abbildungen 3 und 4 ist zu erkennen, daß während der Perfusion mit glykosidfreier Lösung die Digoxinkonzentrationen im ausfließenden Medium zunächst schnell und dann bei halblogarithmischer Darstellung dem Ende zu linear mit der Zeit abfallen, d.h. einen biphasischen Verlauf nehmen. Ein

Tabelle I

Glykosidverteilung nach Perfusion von 7 isolierten Rattenlebern mit digoxinhaltiger Lösung

Perfusion	Angebot (µg)	Perfusat (µg)	Perfusat (%)	Galle (µg)	Galle (%)	Homogenat (µg)	Homogenat (%)	Nachperfusat (µg)	Nachperfusat (%)
1	238,39	170,33 (172,76)	71,45 (72,47)	2,60	1,09	22,53 (24,65)	9,45 (10,34)	42,93 (40,98)	18,01 (17,19)
2	219,15	178,72 (180,44)	81,55 (82,34)	1,10	0,50	9,25 (9,23)	4,22 (4,21)	30,09 (29,48)	13,73 (13,45)
3	279,70	231,42 (232,75)	82,74 (83,21)	1,45	0,52	8,45 (7,42)	3,02 (2,65)	38,37 (39,53)	13,72 (14,13)
4	281,08	238,75 (243,42)	84,94 (86,60)	1,77	0,63	7,08 (5,91)	2,52 (2,10)	33,48 (31,75)	11,91 (11,30)
5	374,30	315,42 (321,26)	84,27 (85,83)	1,35	0,36	8,42 (7,51)	2,25 (2,01)	49,11 (45,53)	13,12 (12,16)
6	6,80	2,56 (2,67)	37,58 (39,24)	0,17	2,50	2,17 (2,21)	31,96 (32,52)	1,90 (1,92)	27,96 (28,24)
7	7,63	3,41 (3,56)	44,67 (46,66)	0,14	1,82	2,18 (2,10)	28,53 (27,52)	1,91 (1,97)	24,98 (25,82)

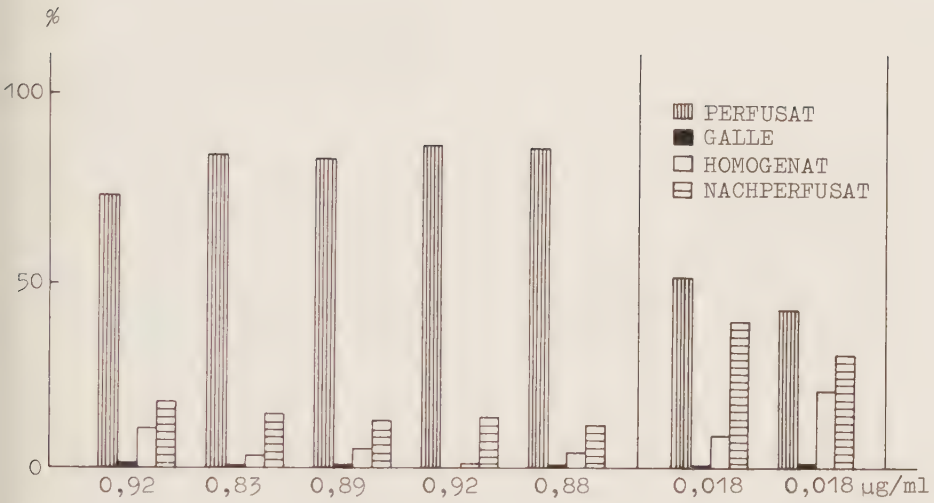


Abb. 2: Glykosidverteilung nach Perfusion von 7 isolierten Rattenlebern mit digoxinhaltiger Lösung.

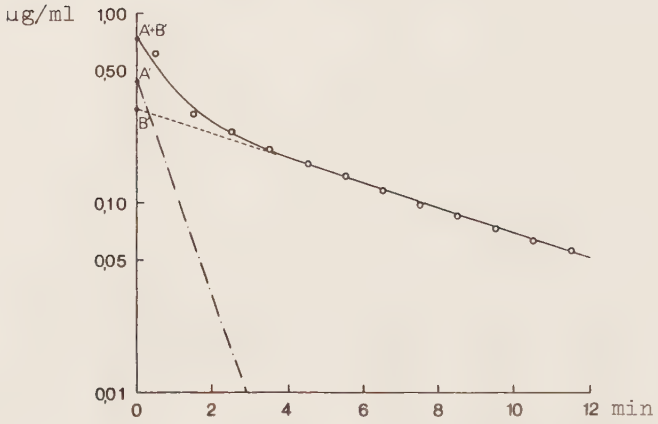


Abb. 3: Semilogarithmische Darstellung der Glykosidkonzentration des in Ein-Minuten-Intervallen gesammelten ausfließenden Mediums nach Abbruch der Perfusion mit digoxinhaltiger Lösung (Perfusion 5). Erläuterung siehe Text.

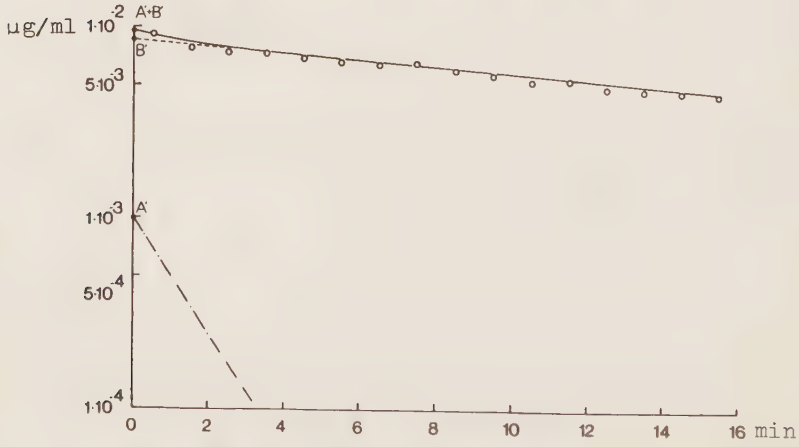


Abb. 4: Semilogarithmische Darstellung der Glykosidkonzentration des in Ein-Minuten-Intervallen gesammelten ausfließenden Mediums nach Abbruch der Perfusion mit digoxinhaltiger Lösung (Perfusion 7). Erläuterung siehe Text.

derartiges Verhalten, das sich bei allen 7 Versuchen mit Digoxin zeigte, ließ sich mathematisch am genauesten durch die Summe zweier Exponentialtermen beschreiben (Gl. 1).

Pharmakokinetisch ist ein solcher Verlauf der Glykosidkonzentration mit einem offenen Zwei-Kompartimenten-Modell zu vereinbaren. Ein Drei-Kompartimenten-Modell konnten wir aufgrund der hohen Korrelationskoeffizienten zwischen errechneten und gemessenen Werten ausschließen (Tab. 2, Teil 1 und 2).

Da die gesamte Digoxinmenge in Form einer mehrminutigen Perfusion der Leber angeboten wurde, paßten wir zur Bestimmung der für ein Zwei-Kompartimenten-Modell spezifischen Parameter die regressionsanalytisch ermittelten Konzentrationswerte A_1 und A_2 (Gl. 1) nach dem Verfahren von Loo und Riegelmann (1970) denen einer Bolusinjektion an.

Danach zeigte sich, daß bei einer mittleren Digoxinkonzentration von c_o = 0,89 µg/ml die Halbwertzeiten der schnellen Verteilungsphase, α-Phase genannt, zwischen 0,47 min und 0,83 min liegen, während sie bei einer fünfzigfach kleineren Konzentration 0,96 min und 0,99 min betragen. Die entsprechenden Zeiten der relativ langsamen Eliminationsphasen, β-Phasen genannt, schwanken zwischen 3,61 min und 5,38 min bei der hohen Konzentration und 15,63 min, bzw. 15,93 min bei dem niedrigeren Angebot.

Die für die Geschwindigkeit der ablaufenden Prozesse spezifischen Parameter, K_{12} und K_{21} für den Transfer zwischen zentralem und peripherem Kompartiment, sowie K_{el} für die Elimination aus dem zentralen Kompartiment, sind in Tabelle 2 zusammengefaßt. Ebenso darin enthalten sind sowohl die Voluminawerte beider Kompartimente, Vd_{ss}, des steady-states als auch Vd_{β}, das Verteilungsvolumen des sogenannten Pseudoverteilungsgleichgewichts.

Da sowohl für die Transfer- als auch für die Eliminationsprozesse nur der nicht gebundene Glykosidanteil relevant ist (Gillette, 1973; Dengler, 1974), war es notwendig, die Protein-

Tabelle II
Teil 1

Pharmakokinetische Parameter des offenen Zwei-Kompartimenten-Modells nach Perfusion von 7 isolierten Rattenlebern mit digoxinhaltiger Lösung.

Perfusion	A' (µg/ml)	A (µg/ml)	α (min^{-1})	$t_{1/2_\alpha}$ (min)	r_α
1	0,32	4,11	0,995626	0,70	0,945414
2	0,51	6,65	0,875538	0,79	0,943703
3	0,41	10,22	1,461818	0,47	0,986257
4	0,86	12,24	0,838743	0,83	0,999944
5	0,44	12,42	1,293818	0,54	0,975742
6	0,0015	0,0220	0,721322	0,96	0,979713
7	0,0010	0,0191	0,700712	0,99	0,967081

Tabelle II
Teil 2

Pharmakokinetische Parameter des offenen Zwei-Kompartimenten-Modells nach Perfusion von 7 isolierten Rattenlebern mit digoxinhaltiger Lösung.

Perfusion	B' (µg/ml)	B (µg/ml)	β (min^{-1})	$t_{1/2_\beta}$ (min)	r_β
1	0,30	0,66	0,143022	4,85	0,999995
2	0,32	0,97	0,191907	3,61	0,999705
3	0,32	1,00	0,172416	4,02	0,993163
4	0,18	0,44	0,128729	5,38	0,985548
5	0,31	1,10	0,153648	4,51	0,998245
6	0,0095	0,0140	0,044352	15,63	0,995032
7	0,0085	0,0141	0,043514	15,93	0,985589

Tabelle II
Teil 3

Pharmakokinetische Parameter des offenen Zwei-Kompartimenten-Modells nach Perfusion von 7 isolierten Rattenlebern mit digoxinhaltiger Lösung.

Perfusion	C_o (µg/ml)	K_o (µg/min)	K_{el} (min^{-1})	K_{12} (min^{-1})	K_{21} (min^{-1})
1	0,92	18,34	0,544255	0,332758	0,261635
2	0,83	14,61	0,603057	0,185771	0,278617
3	0,89	16,45	0,878390	0,468909	0,286935
4	0,92	16,53	0,703629	0,110395	0,153448
5	0,88	17,01	0,806345	0,394586	0,246535
6	0,0180	0,3401	0,103999	0,354057	0,307618
7	0,0181	0,2935	0,094596	0,327390	0,322233

Tabelle II
Teil 4

Pharmakokinetische Parameter des offenen Zwei-Kompartimenten-Modells nach Perfusion von 7 isolierten Rattenlebern mit digoxinhaltiger Lösung.

Perfusion	T_{50} (min)	T_{SS} (min)	T_P (min)	T_{NP} (min)	T_{P+NP} (min)
1	4,13	19,40	13,00	6,00	19,00
2	2,44	14,44	15,00	6,00	21,00
3	3,32	16,08	17,00	10,00	27,00
4	2,34	21,52	17,00	10,00	27,00
5	3,67	18,04	22,00	12,00	34,00
6	15,65	62,52	20,00	14,00	34,00
7	17,20	63,72	26,00	16,00	42,00

Tabelle II
Teil 5

Pharmakokinetische Parameter des offenen Zwei-Kompartimenten-Modells nach Perfusion von 7 isolierten Rattenlebern mit digoxinhaltiger Lösung.

Perfusion	V_1 (ml)	V_2 (ml)	V_{d_β} (ml)	$V_{d_{ss}}$ (ml)	$A_{L_{max}}$ (µg)
1	49,92	63,49	190,06	113,41	76,54
2	28,78	19,19	90,42	47,97	40,38
3	24,93	40,74	127,04	65,67	49,34
4	22,16	15,94	121,10	38,10	40,40
5	27,68	44,29	145,26	71,97	54,87
6	188,88	217,39	461,34	406,27	7,03
7	231,21	234,91	502,64	466,12	6,27

bindung von Digoxin zu bestimmen. Sie betrug bei einer Glykosidkonzentration des Perfusionsmediums von c_o = 0,89 µg/ml 10,41 ± 0,23 % (N = 4, $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$) und bei c_o = 0,02 µg/ml 9,81 ± 0,31 % (N = 4). Die Proteinbindung war somit niedrig genug, um die Gesamtkonzentration mit dem freien Anteil gleichsetzen zu können.

Die Abbildungen 5, 7, 9, 11, 13, 15 und 17 zeigen, daß der Glykosidgehalt im zentralen und peripheren Kompartiment zunächst schnell zunimmt und sich mit der Zeit asymptotisch einem konstanten Wert nähert. Dies spiegelt die Tatsache wieder, daß sich mit zunehmender Perfusionsdauer ein Infusionsgleichgewicht (steady-state) einstellt, das nach Greenblatt und Koch-Weser (1975) nach ungefähr der 4-fachen Halbwertzeit der β-Phasen erreicht ist. Diese Zeit, T_{ss}, betrug bei c_o = 0,83 µg/ml 14,44 min (Perfusion 2) und bei c_o = 0,018 µg/ml 62,52 min (Perfusion 6) (Tab. 2, Teil 4).

Zu diesem Zeitpunkt ist die maximale Speicherfähigkeit der Leber (A_{Lmax}), die sich aus der Summe der Glykosidbeträge beider Kompartimente im steady-state ergibt, erreicht. Bei einem Digoxinangebot von K_o = 18,34 µg/min beträgt die Speicherkapazität 76,54 µg (Perfusion 1) und bei K_o = 0,29 µg/min (Perfusion 7), 6,27 µg (Tab. 2, Teil 5). Die Hälfte der Menge, die die Leber maximal zu speichern vermag, ist bei diesen Versuchen nach 4,13 min, bzw. 17,20 min erreicht.

Mit Hilfe der erhaltenen pharmakokinetischen Größen ist es nun auch möglich, den Abfall des Glykosidgehalts der Leber nach Abbruch der Perfusion mit glykosidhaltiger Lösung im Sinne eines Zwei-Kompartimenten-Modells zu beschreiben. Aus den genannten Abbildungen geht hervor, daß der Glykosidspiegel im peripheren Kompartiment anfangs langsamer abfällt als im zentralen und während des sogenannten Pseudoverteilungsgleichgewichts parallel zu dem im zentralen Kompartiment verläuft.

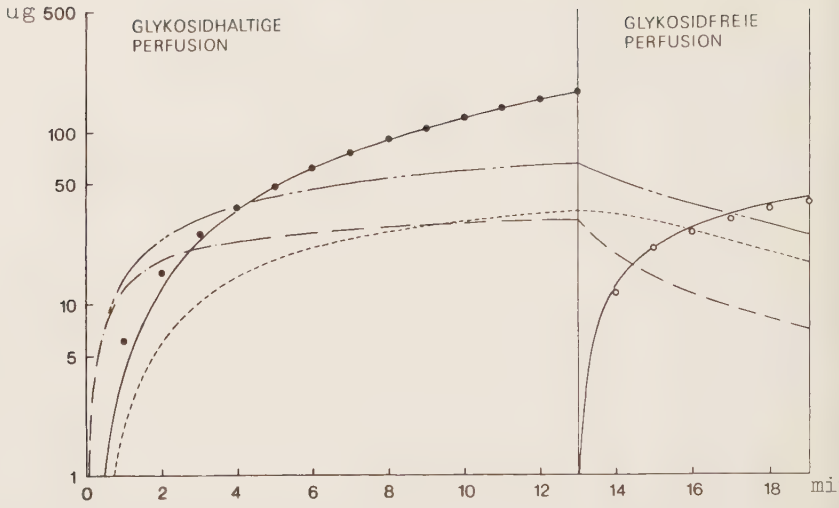


Abb. 5: Glykosidgehalt des zentralen (-·-), peripheren (---) und Eliminationskompartiments (——) sowie die in der Leber (— -- —) zur Zeit t der digoxinhaltigen und digoxinfreien Perfusion enthaltene Glykosidmenge (Perfusion 1). Punkte: Gemessene Werte bezogen auf eine mittlere Flußrate von 18,34 ml/min. Linien: Errechnete Kurven.

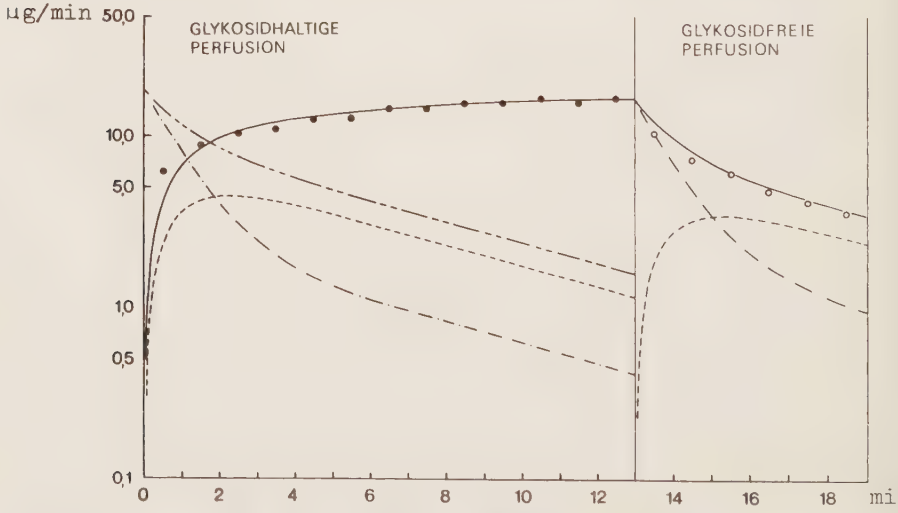


Abb. 6: Glykosidab-, bzw. Glykosidzunahme der einzelnen Kompartimente zur Zeit t der digoxinhaltigen und digoxinfreien Perfusion (Perfusion 1). Erläuterung siehe Abb. 5.

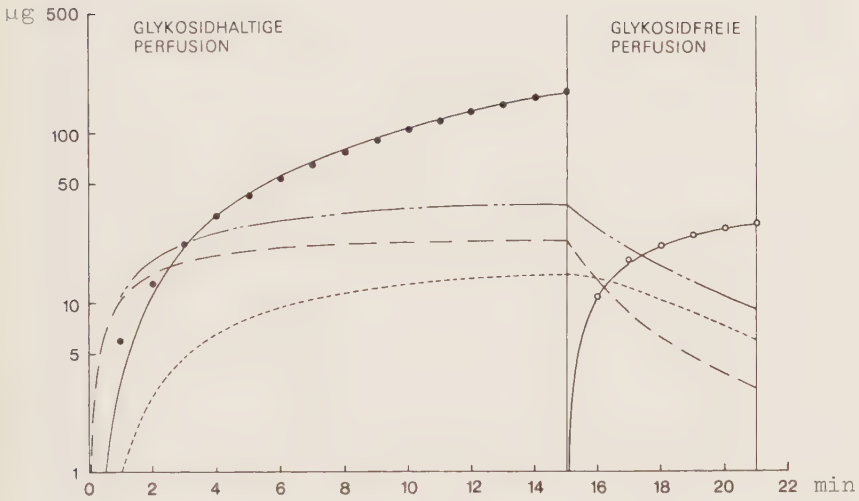


Abb. 7: Glykosidgehalt der einzelnen Kompartimente zur Zeit t der digoxinhaltigen und digoxinfreien Perfusion (Perfusion 2). Erläuterung siehe Abb. 5.

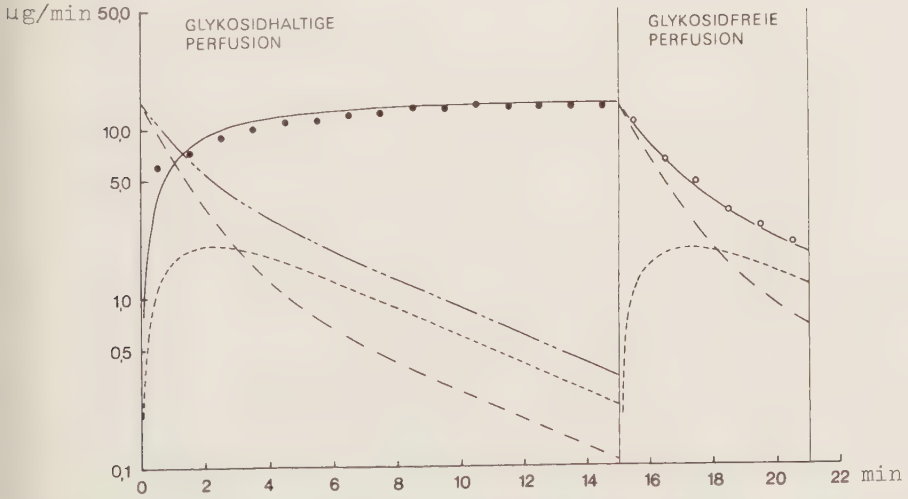


Abb. 8: Glykosidab-, bzw. Glykosidzunahme der einzelnen Kompartimente zur Zeit t der digoxinhaltigen und digoxinfreien Perfusion (Perfusion 2). Erläuterung siehe Abb. 5.

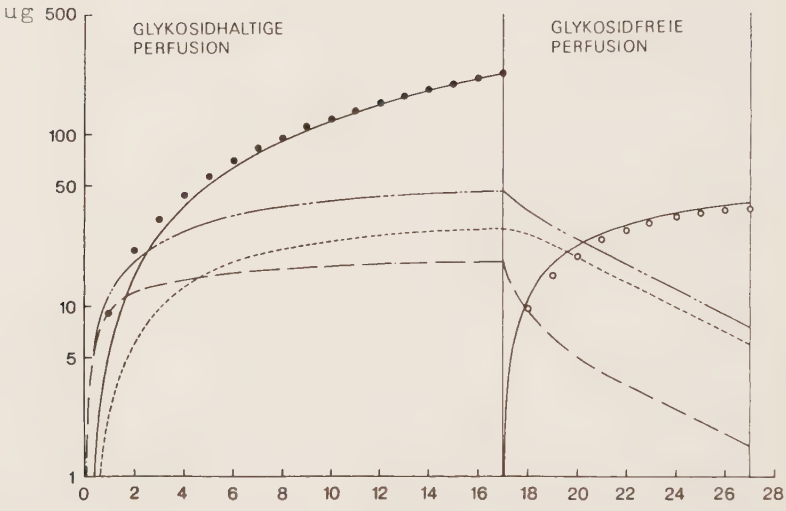


Abb. 9: Glykosidgehalt der einzelnen Kompartimente zur Zeit t der digoxinhaltigen und digoxinfreien Perfusion (Perfusion 3). Erläuterung siehe Abb. 5.

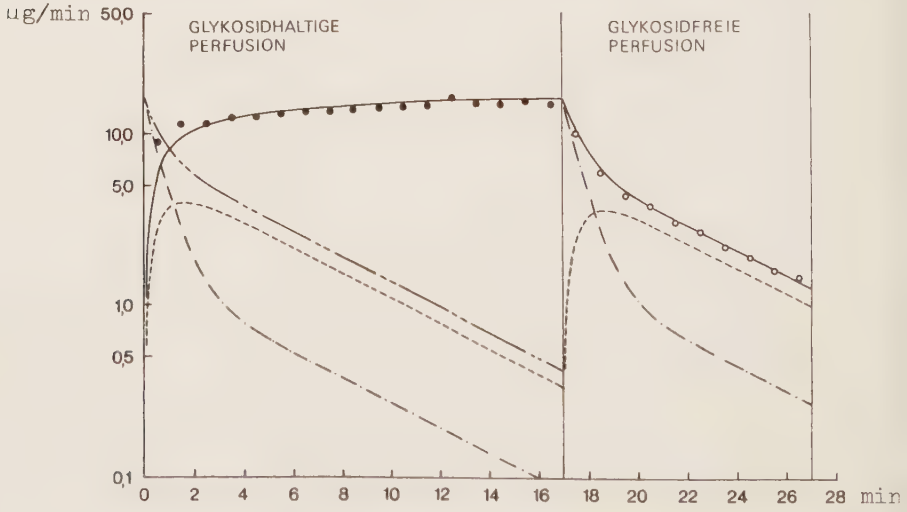


Abb. 10: Glykosidab-, bzw. Glykosidzunahme der einzelnen Kompartimente zur Zeit t der digoxinhaltigen und digoxinfreien Perfusion (Perfusion 3). Erläuterung siehe Abb. 5.

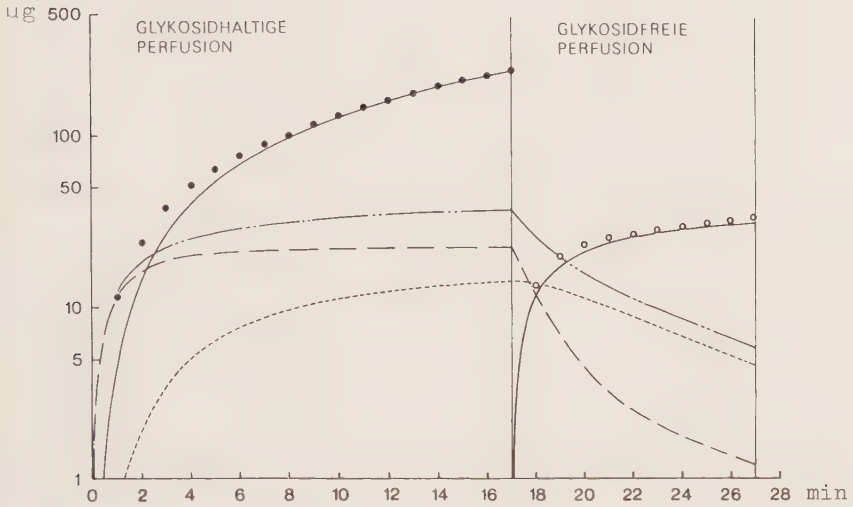


Abb. 11: Glykosidgehalt der einzelnen Kompartimente zur Zeit t der digoxinhaltigen und digoxinfreien Perfusion (Perfusion 4). Erläuterung siehe Abb. 5.

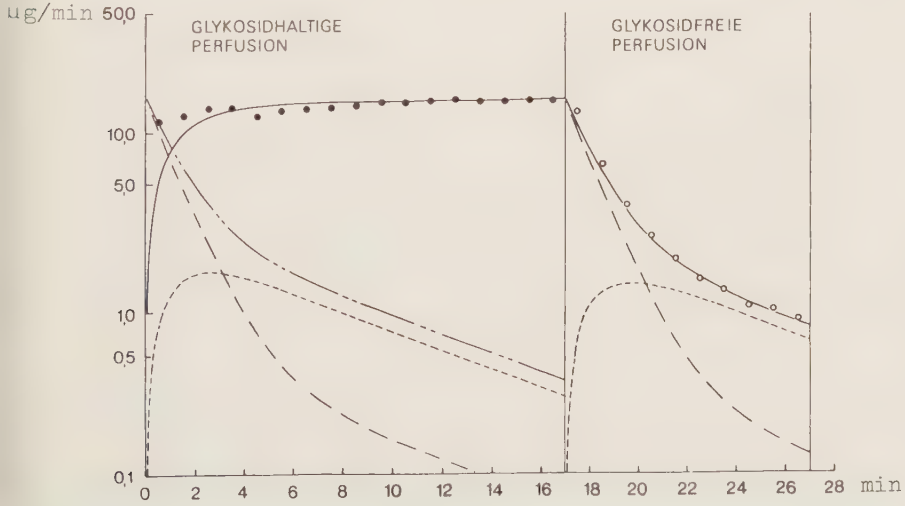


Abb. 12: Glykosidab-, bzw. Glykosidzunahme der einzelnen Kompartimente zur Zeit t der digoxinhaltigen und digoxinfreien Perfusion (Perfusion 4). Erläuterung siehe Abb. 5.

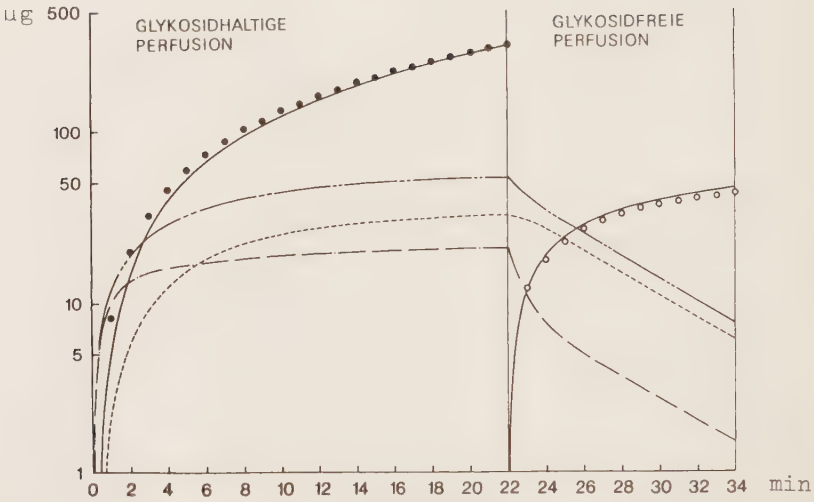


Abb. 13: Glykosidgehalt der einzelnen Kompartimente zur Zeit t der digoxinhaltigen und digoxinfreien Perfusion (Perfusion 5). Erläuterung siehe Abb. 5.

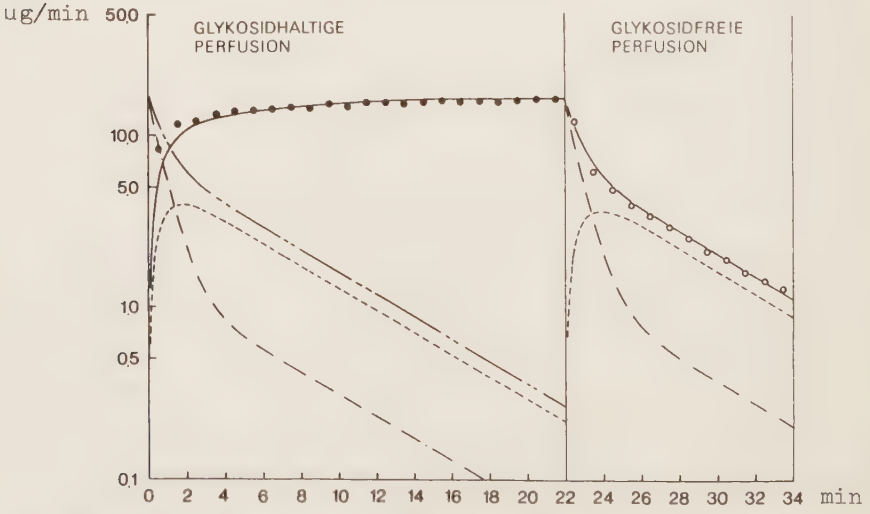


Abb. 14: Glykosidab-, bzw. Glykosidzunahme der einzelnen Kompartimente zur Zeit t der digoxinhaltigen und digoxinfreien Perfusion (Perfusion 5). Erläuterung siehe Abb. 5.

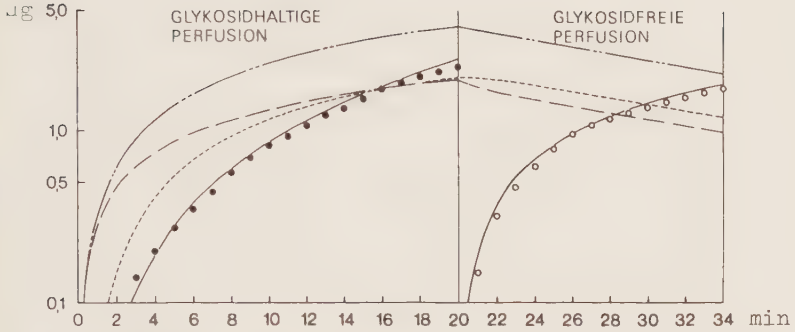


Abb. 15: Glykosidgehalt der einzelnen Kompartimente zur Zeit t der digoxinhaltigen und digoxinfreien Perfusion (Perfusion 6). Erläuterung siehe Abb. 5.

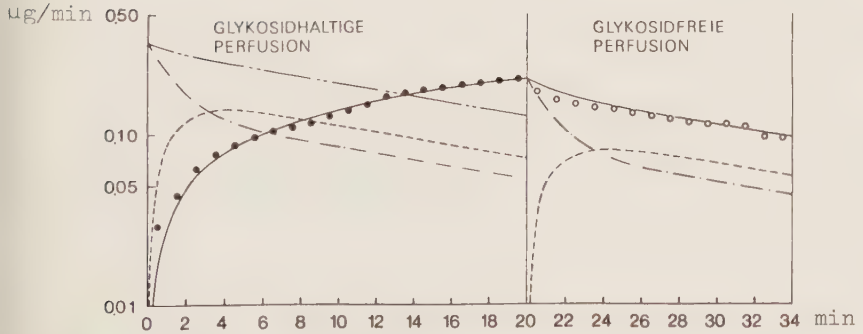


Abb. 16: Glykosidab-, bzw. Glykosidzunahme der einzelnen Kompartimente zur Zeit t der digoxinhaltigen und digoxinfreien Perfusion (Perfusion 6). Erläuterung siehe Abb. 5.

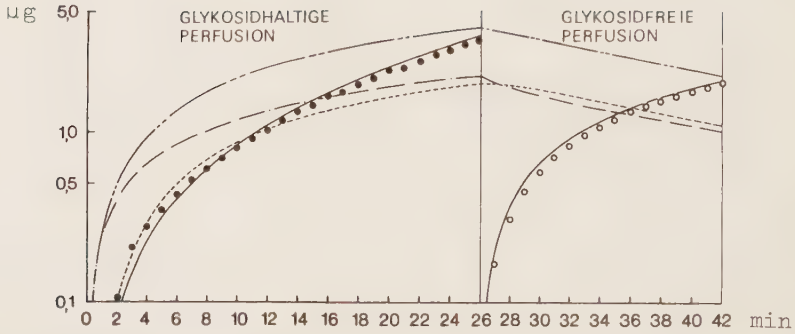


Abb. 17: Glykosidgehalt der einzelnen Kompartimente zur Zeit t de digoxinhaltigen und digoxinfreien Perfusion (Perfusion 7). Erläu terung siehe Abb. 5.

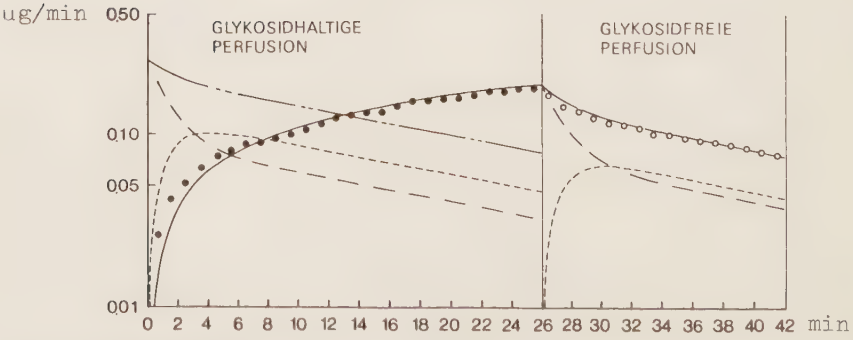


Abb. 18: Glykosidab-, bzw. Glykosidzunahme der einzelnen Komparti mente zur Zeit t der digoxinhaltigen und digoxinfreien Perfusion (Perfusion 7). Erläuterung siehe Abb. 5.

Während in den Abbildungen 5, 7, 9, 11, 13, 15 und 17 der Glykosidgehalt der einzelnen Kompartimente für die Dauer der Perfusion und Nachperfusion dargestellt ist, wird in den Abbildungen 6, 8, 10, 12, 14, 16 und 18 die Zu-, bzw. Abnahme zum jeweiligen Zeitpunkt t bzw. t', die sich aus den Steigungen der Kurven A_1 (t) bzw. A_1 (t'), A_2 (t) bzw. A_2 (t') und A_3 (t) bzw. A_3 (t') ergibt, beschrieben.

Danach zeigt die Zunahme der Digoxinspeicherung im zentralen Kompartiment zunächst einen schnellen und dann zunehmend langsameren Abfall, der bei halblogarithmischer Darstellung linear verläuft, während die Zunahme im peripheren Kompartiment anfangs eine Steigerung erfährt und dann parallel zu der im zentralen Kompartiment abfällt. Im steady-state erfolgt keine weitere Retention des angebotenen Digoxins mehr, so daß die Steigungen, das zentrale und periphere Kompartiment betreffend, gegen Null streben und das Eliminationskompartiment (Perfusat) betreffend, sich asymptotisch K_o nähern.

Vor allem aus den Abbildungen 8, 10 und 14 geht weiter hervor, daß die während der Perfusion mit glykosidfreier Lösung von der Leber zum jeweiligen Zeitpunkt t' abgegebene Glykosidmenge, A_L (t'), ungefähr derjenigen entspricht, die zum entsprechenden Zeitpunkt t während der Perfusion mit glykosidhaltiger Lösung von ihr aufgenommen wird. Dagegen ist in Versuchen, bei denen eine geringere Digoxinmenge pro Minute angeboten wird (Abb. 16 und 18), die Abnahme des Glykosidgehalts in der Leber zum Zeitpunkt t' kleiner als die Zunahme zum entsprechenden Zeitpunkt t der Digitalisperfusion.

2. Stoffwechseluntersuchungen

Bei der Aufarbeitung von insgesamt 102 Einzelfraktionen des während der glykosidhaltigen und glykosidfreien Perfusion ausfließenden Mediums wurde eine von der jeweiligen Digoxinkon-

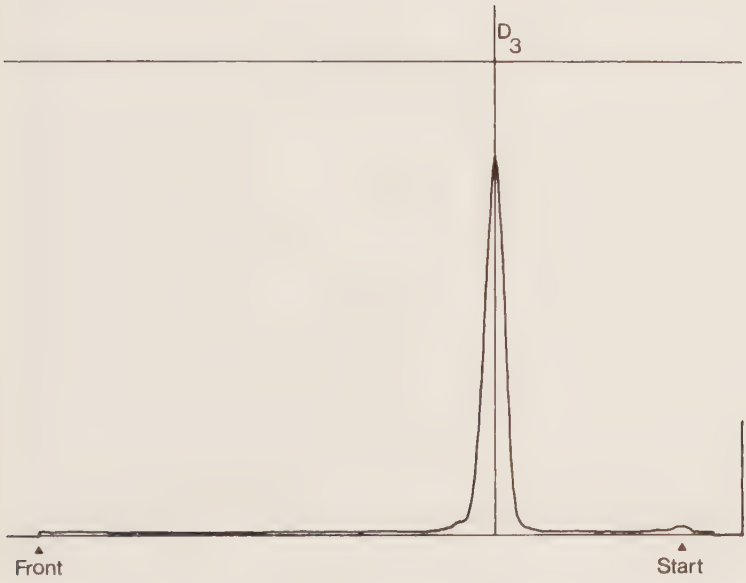
zentration c_o unabhängige, dichlormethanextrahierbare Glykosidfraktion von 94,73 ± 0,56 % (N = 102, $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) gewonnen. Die dünnschichtchromatographische Analyse ergab, daß allein unverändertes Digoxin ausgeschieden wurde (Abb. 19).

Durch Extraktion des aus der Leber gewonnenen Homogenats konnten 87,61 ± 2,30 % (N = 7) der enthaltenen Glykosidmenge in Dichlormethan überführt werden. Von dieser Menge wurden bei einem mittleren Digoxinangebot von K_o = 16,59 µg/min 15,45 ± 0,30 % (N = 5) als Metabolite identifiziert, wovon 12,97 ± 0,24 % auf Digoxigenin-bis-digitoxosid und 2,48 ± 0,10 % auf Digoxigenin-mono-digitoxosid fielen (Tab. 3 und Abb. 20).

Bei einem geringeren Angebot von durchschnittlich nur 0,32 µg/min betrug der metabolisierte Glykosidanteil, der sich aus 9,40 ± 0,36 % Digoxigenin-bis-digitoxosid und 1,81 ± 0,11 % Digoxigenin-mono-digitoxosid zusammensetzte, 11,21 ± 0,46 % (N = 2) (Tab. 3 und Abb. 21).

Von der mit der Galle ausgeschiedenen Glykosidfraktion konnten 88,04 ± 0,67 % (N = 7) in Dichlormethan extrahiert werden. Als einziger Metabolit dieser Fraktion wurde Digoxigenin-bis-digitoxosid gewonnen, dessen Anteil bei K_o = 16,59 µg/min zwischen 13,04 % und 22,00 % und bei K_o = 0,32 µg/min zwischen 11,71 % und 19,73 % lag (Tab. 4 und Abb. 22 und 23).

Die bei der dünnschichtchromatographischen Untersuchung jeweils am Start liegengebliebene Glykosidmenge setzte sich, durch Extraktion und Rechromatographieren nachgewiesen, in allen Fällen allein aus Digoxin zusammen.



bb. 19: Dünnschichtchromatographische Trennung der in Dichlorme-
han extrahierbaren Glykosidfraktion des Perfusats nach Perfusion
it digoxinhaltiger Lösung. D_3 = Digoxin. Fließmittel: I, Zusam-
ensetzung siehe Text (S. 13).

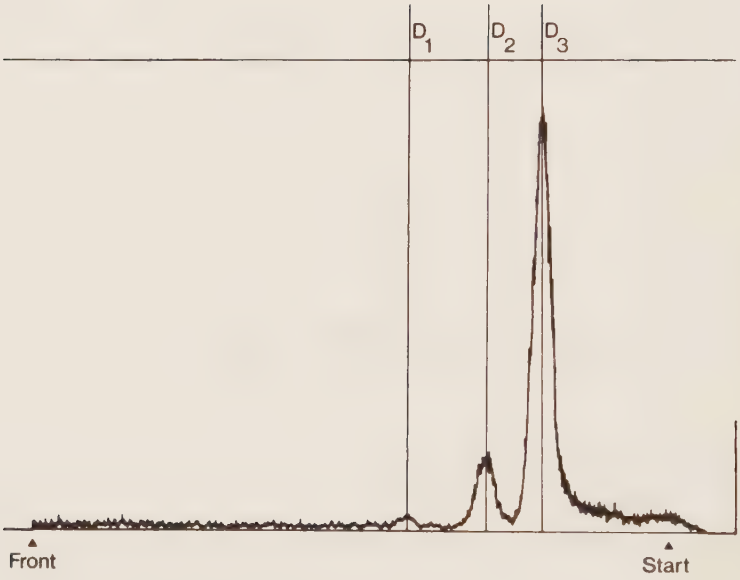


Abb. 20: Dünnschichtchromatographische Trennung der in Dichlormethan extrahierbaren Glykosidfraktion des Homogenats nach Perfusi mit digoxinhaltiger Lösung einer mittleren Konzentration von c_o = 0,89 µg/ml. D_3 = Digoxin, D_2 = Digoxigenin-bis-digitoxosid, D_1 = Digoxigenin-mono-digitoxosid. Fließmittel: II, Zusammensetzung siehe Text (S. 13).

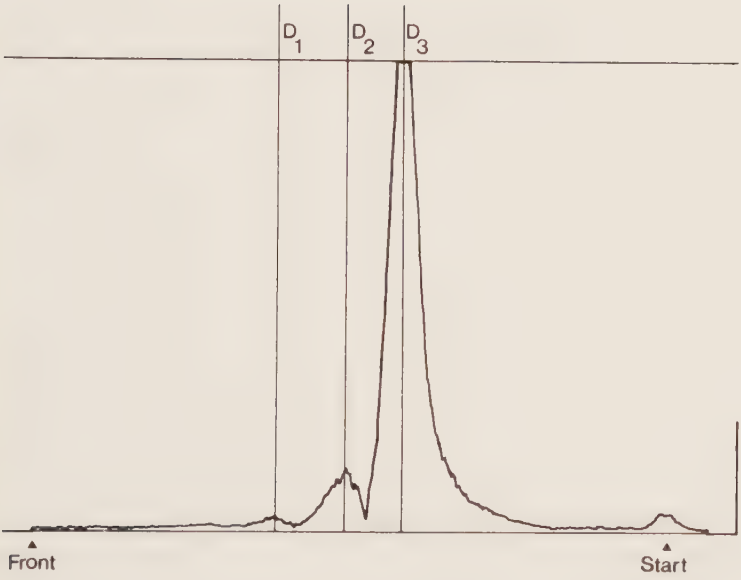


Abb. 21: Dünnschichtchromatographische Trennung der in Dichlormethan extrahierbaren Glykosidfraktion des Homogenats bei einer mittleren Digoxinkonzentration des Perfusionsmediums von c_o = 0,02 µg/ml. Erläuterung siehe Abb. 20.

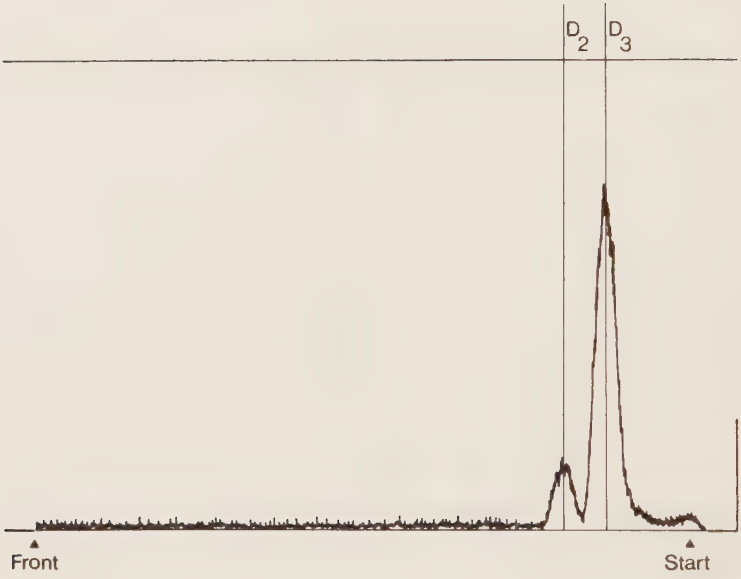


Abb. 22: Dünnschichtchromatographische Trennung der in Dichlorme
than extrahierbaren Glykosidfraktion der Galle bei einer mittle-
ren Digoxinkonzentration des Perfusionsmediums von $c_o = 0{,}89\,\mu g/m$
Erläuterung siehe Abb. 20.

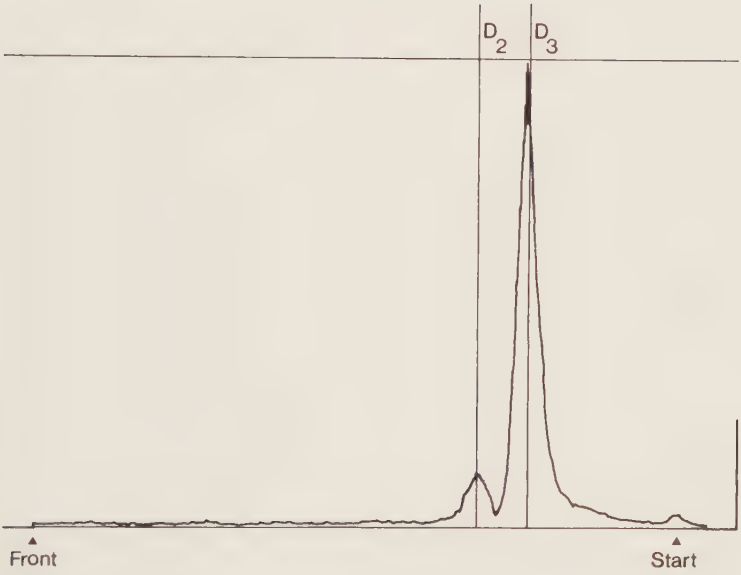


Abb. 23: Dünnschichtchromatographische Trennung der in Dichlormethan extrahierbaren Glykosidfraktion der Galle bei einer mittleren Digoxinkonzentration des Perfusionsmediums von $c_o = 0{,}02\,\mu g/ml$. Erläuterung siehe Abb. 20.

Tabelle III

Prozentuale Verteilung der im Homogenat enthaltenen Glykoside, Digoxin (D_3), Digoxigenin-bis-digitoxosid (D_2) und Digoxigenin-mono-digitoxosid (D_1).

Perfusion	St[1)] (%)	D_3 (%)	D_2 (%)	D_1 (%)
1	3,20	81,42	12,91	2,47
2	3,12	80,51	13,63	2,74
3	2,38	82,10	13,05	2,47
4	2,20	82,42	13,19	2,20
5	2,42	83,03	12,12	2,42
$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	2,66 ± 0,21	81,90 ± 0,43	12,97 ± 0,24	2,48 ± 0,10
6	1,69	87,57	9,04	1,70
7	0,76	87,57	9,75	1,91
$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	1,23 ± 0,47	87,57 ± 0,00	9,40 ± 0,36	1,81 ± 0,11

Tabelle IV

Prozentuale Verteilung der mit der Galle ausgeschiedenen Glykoside, Digoxin (D_3) und Digoxigenin-bis-digitoxosid (D_2).

Perfusion	St[1] (%)	D_3 (%)	D_2 (%)
1	6,51	76,51	16,98
2	6,72	77,14	16,14
3	8,67	76,02	15,31
4	8,70	78,26	13,04
5	6,00	72,00	22,00
$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	7,32 ± 0,57	75,99 ± 1,06	16,69 ± 1,48
6	1,46	86,83	11,71
7	1,19	80,27	19,73
$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	1,33 ± 0,14	83,35 ± 3,29	15,72 ± 4,02

1) Am Start liegengebliebene Glykosidmenge

II. Versuche mit β-Methyldigoxin

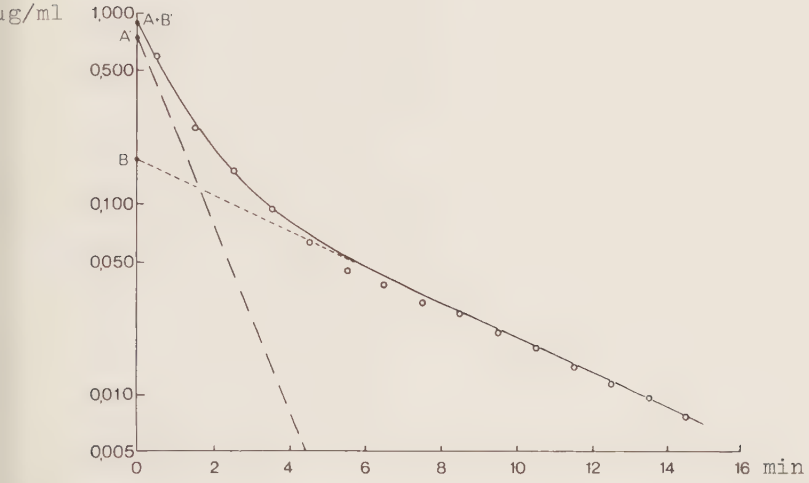
1. Kinetik

Der Konzentrationszeitverlauf von β-Methyldigoxin im ausfliessenden Medium während der mit glykosidfreier Lösung durchgeführten Nachperfusion (Abb. 24 und 25) läßt sich, wie bei den Versuchen mit Digoxin, am genauesten mit der schon erwähnten Gleichung (1) beschreiben. Somit kann unter Vernachlässigung der mit der Galle ausgeschiedenen Glykosidmenge wiederum ein Zwei-Kompartimenten-Modell zugrunde gelegt werden. Die dazu spezifischen Parameter sind in Tabelle 5 zusammengefaßt.

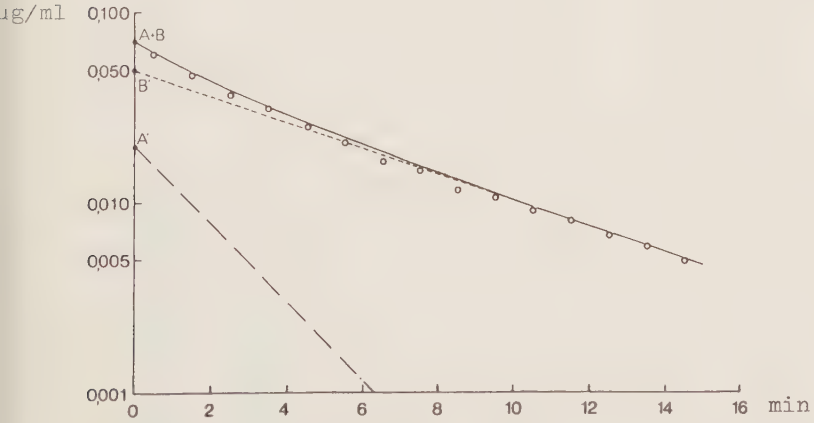
Ebenso wie im Falle von Digoxin konnten wir bei den Versuchen mit β-Methyldigoxin die jeweilige Gesamtglykosidkonzentration mit dem nicht gebundenen Anteil gleichsetzen, da die Proteinbindung bei einer Glykosidkonzentration des Perfusionsmediums von c_o = 0,90 µg/ml nur 10,03 ± 0,33 % (N = 4, $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$) und bei c_o = 0,08 µg/ml nur 10,25 ± 0,18 % (N = 3) betrug.

Die Abbildungen 26, 28, 30 und 32 zeigen, daß sich der Glykosidgehalt der Leber asymptotisch seinem Maximalwert von durchschnittlich 37,30 µg bei einem Angebot von K_o = 20,25 µg/min und 7,49 µg bei K_o = 1,49 µg/min nähert. Von diesem Betrag sind nach der 4-fachen Halbwertzeit der β-Phasen, im Mittel nach 14,11 min (c_o = 0,90 µg/ml) 96,55 % bzw., nach 18,61 min (c_o = 0,075 µg/ml) 94,73 % erreicht.

Nach 20 minutiger Digitalisperfusion konnten wir einen mit dem Perfusat eliminierten Glykosidanteil von 91,21 % einer Dosis von 405,08 µg und von 75,13 % bei 29,70 µg bestimmen (Tab. 6 und Abb. 34). Unter Berücksichtigung der mit der Galle ausgeschiedenen Glykosidmenge von durchschnittlich 0,18 % (c_o = 0,90 µg/ml) bzw. 0,33 % (c_o = 0,075 µg/ml) entspricht dies einer retinierten Menge an β-Methyldigoxin von 8,62 % bzw. 24,55 %. Davon wurden während der Nachperfusion 8,30 % bzw. 21,98 % wieder abgegeben, so daß nach 15 min dauernder Perfusion mit



bb. 24: Semilogarithmische Darstellung der Glykosidkonzentration
es in Ein-Minuten-Intervallen gesammelten ausfließenden Mediums
ach Abbruch der Perfusion mit β-methyldigoxinhaltiger Lösung
Perfusion 1). Erläuterung siehe Text.



bb. 25: Semilogarithmische Darstellung der Glykosidkonzentration
es in Ein-Minuten-Intervallen gesammelten ausfließenden Mediums
ach Abbruch der Perfusion mit β-methyldigoxinhaltiger Lösung
Perfusion 4). Erläuterung siehe Text.

Tabelle V
Teil 1

Pharmakokinetische Parameter des offenen Zwei-Kompartimenten-Modells nach Perfusion von 4 isolierten Rattenlebern mit β-methyldigoxinhaltiger Lösung.

Perfusion	A' (µg/ml)	A (µg/ml)	α (min^{-1})	$t_{1/2_\alpha}$ (min)	r_α
1	0,75	16,64	1,111466	0,62	0,998555
2	0,70	10,32	0,738563	0,94	0,999368
3	0,03	0,29	0,496614	1,40	0,998247
4	0,02	0,23	0,475365	1,46	0,995403

Tabelle V
Teil 2

Pharmakokinetische Parameter des offenen Zwei-Kompartimenten-Modells nach Perfusion von 4 isolierten Rattenlebern mit 8-methyldigoxinhaltiger Lösung.

Perfusion	B' (µg/ml)	B (µg/ml)	β (min^{-1})	$t_{1/2_\beta}$ (min)	r_β
1	0,17	0,72	0,213680	3,24	0,978878
2	0,15	0,54	0,181740	3,81	0,991024
3	0,05	0,14	0,140870	4,92	0,986146
4	0,05	0,15	0,158002	4,39	0,996958

Tabelle V
Teil 3

Pharmakokinetische Parameter des offenen Zwei-Kompartimenten-Modells nach Perfusion von 4 isolierten Rattenlebern mit β-methyldigoxinhaltiger Lösung.

Perfusion	C_o (µg/ml)	K_o (µg/min)	K_{el} (min^{-1})	K_{12} (min^{-1})	K_{21} (min^{-1})
1	0,90	20,01	0,946103	0,128015	0,251028
2	0,91	20,50	0,641001	0,069900	0,209402
3	0,08	1,46	0,275723	0,108035	0,253727
4	0,08	1,51	0,264415	0,084896	0,284056

Tabelle V
Teil 4

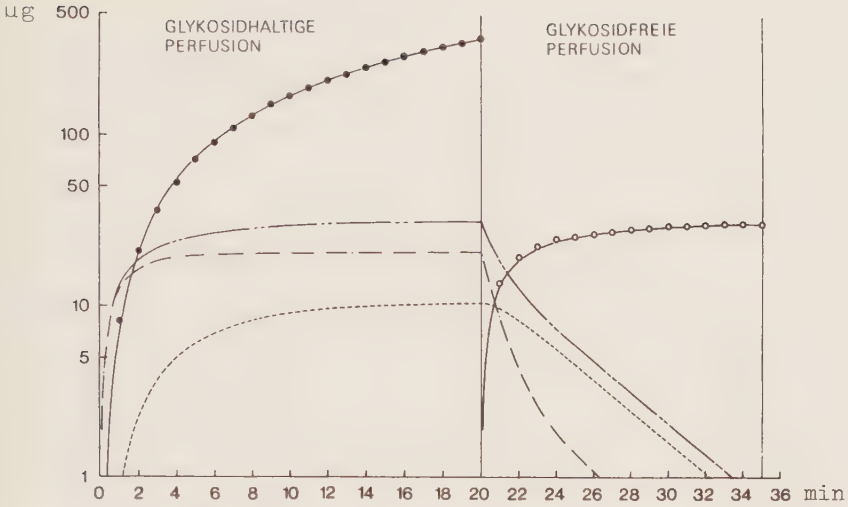
Pharmakokinetische Parameter des offenen Zwei-Kompartimenten-Modells nach Perfusion von 4 isolierten Rattenlebern mit 8-methyldigoxinhaltiger Lösung.

Perfusion	T_{50} (min)	T_{SS} (min)	T_P (min)	T_{NP} (min)	T_{P+NP} (min)
1	1,41	12,97	20,00	15,00	35,00
2	1,66	15,25	20,00	15,00	35,00
3	4,10	19,68	20,00	15,00	35,00
4	3,68	17,54	20,00	15,00	35,00

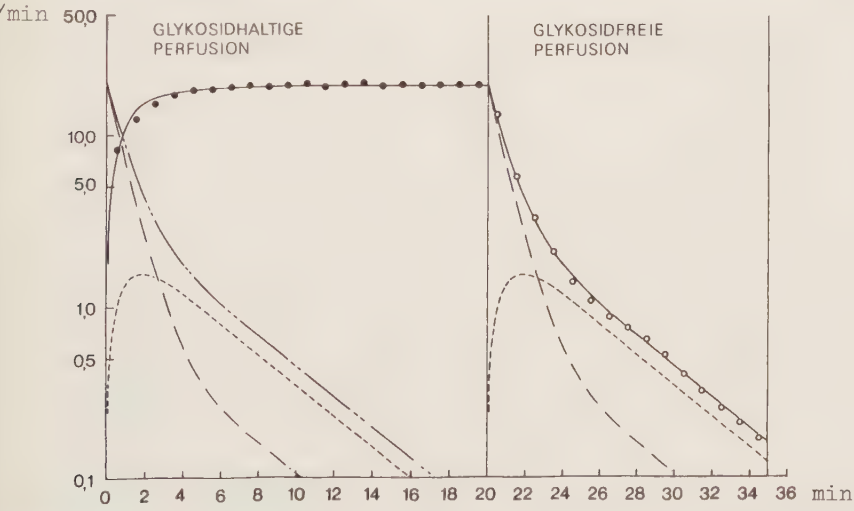
Tabelle V
Teil 5

Pharmakokinetische Parameter des offenen Zwei-Kompartimenten-Modells nach Perfusion von 4 isolierten Rattenlebern mit β-methyldigoxinhaltiger Lösung.

Perfusion	V_1 (ml)	V_2 (ml)	V_{d_β} (ml)	$V_{d_{ss}}$ (ml)	$A_{L_{max}}$ (µg)
1	23,05	11,76	101,80	34,81	31,94
2	37,55	12,54	132,69	50,09	42,65
3	68,01	28,95	129,38	96,96	7,54
4	79,11	23,81	136,71	103,52	7,43



bb. 26: Glykosidgehalt des zentralen (-·-), peripheren (---) und liminationskompartiments (——) sowie die in der Leber (— -- —) ur Zeit t der β-methyldigoxinhaltigen und β-methyldigoxinfreien erfusion enthaltene Glykosidmenge (Perfusion 1). Punkte: Gemes- ene Werte bezogen auf eine mittlere Flußrate von 21,10 ml/min. inien: Errechnete Kurven.



bb. 27: Glykosidab-, bzw. Glykosidzunahme der einzelnen Kompartiente zur Zeit t der β-methyldigoxinhaltigen und β-methyldigoxinreien Perfusion (Perfusion 1). Erläuterung siehe Abb. 26.

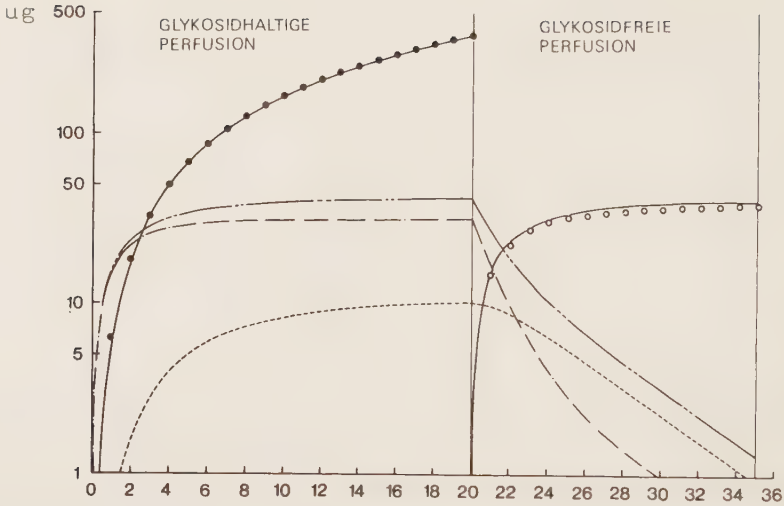


Abb. 28: Glykosidgehalt der einzelnen Kompartimente zur Zeit t de β-methyldigoxinhaltigen und β-methyldigoxinfreien Perfusion (Per fusion 2). Erläuterung siehe Abb. 26.

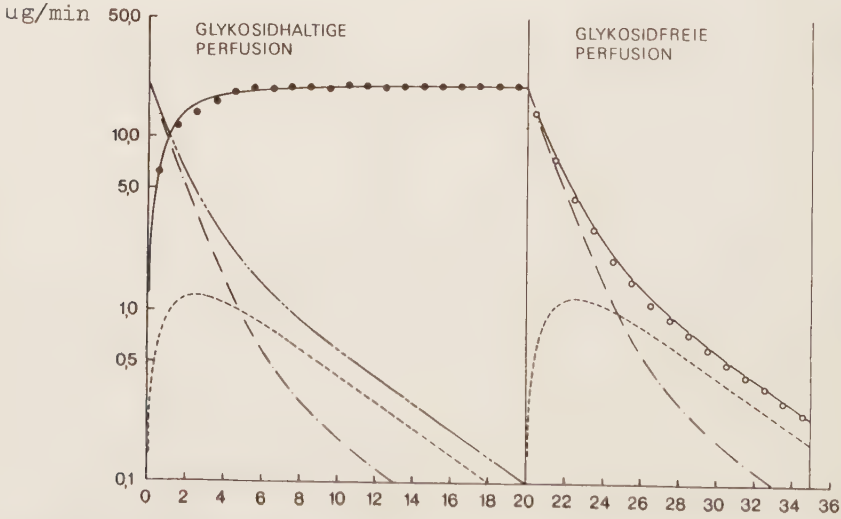


Abb. 29: Glykosidab-, bzw. Glykosidzunahme der einzelnen Komparti mente zur Zeit t der β-methyldigoxinhaltigen und β-methyldigoxin freien Perfusion (Perfusion 2). Erläuterung siehe Abb. 26.

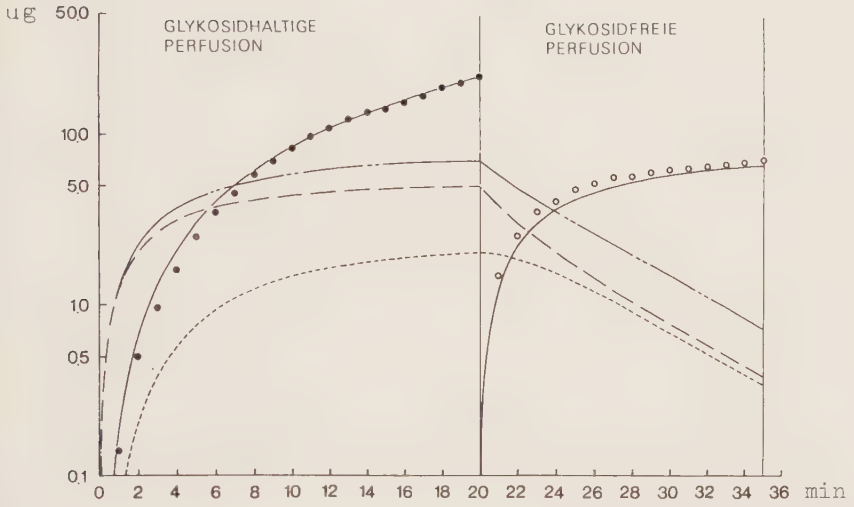


Abb. 30: Glykosidgehalt der einzelnen Kompartimente zur Zeit t der β-methyldigoxinhaltigen und β-methyldigoxinfreien Perfusion (Perfusion 3). Erläuterung siehe Abb. 26.

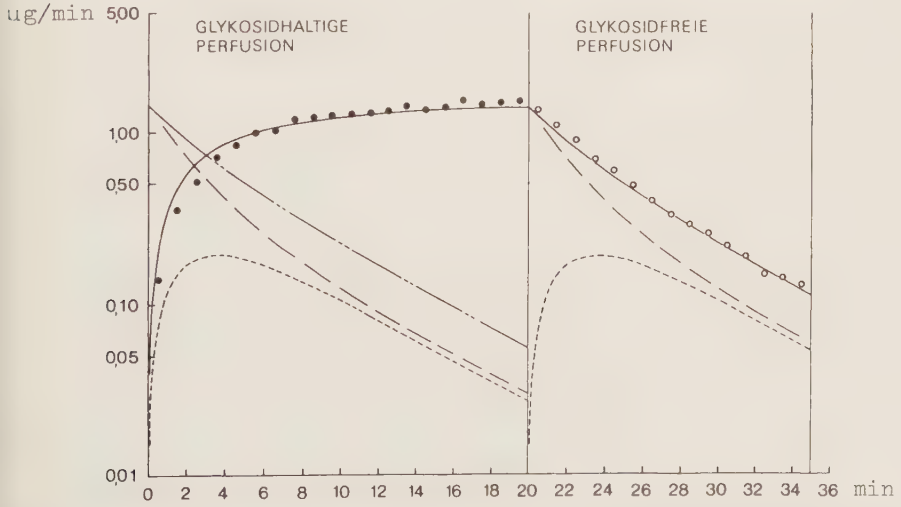


Abb. 31: Glykosidab-, bzw. Glykosidzunahme der einzelnen Kompartimente zur Zeit t der β-methyldigoxinhaltigen und β-methyldigoxinfreien Perfusion (Perfusion 3). Erläuterung siehe Abb. 26.

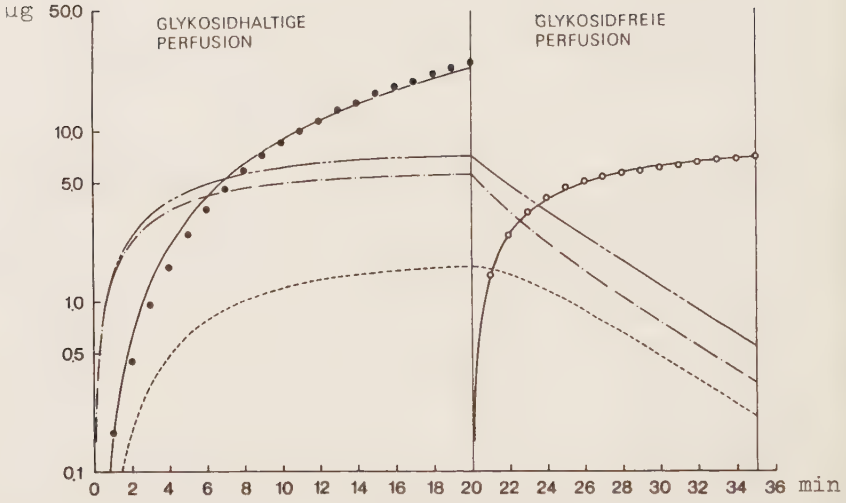


Abb. 32: Glykosidgehalt der einzelnen Kompartimente zur Zeit t der β-methyldigoxinhaltigen und β-methyldigoxinfreien Perfusion (Perfusion 4). Erläuterung siehe Abb. 26.

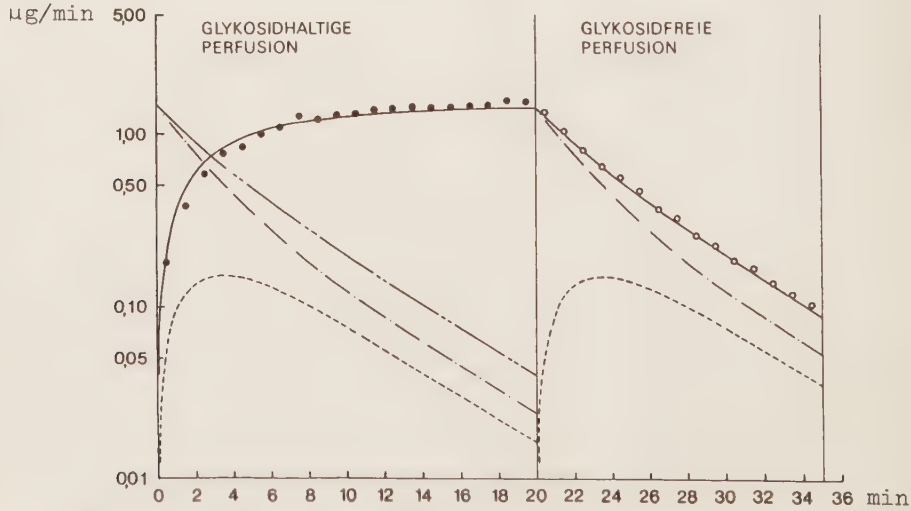


Abb. 33: Glykosidab-, bzw. Glykosidzunahme der einzelnen Kompartimente zur Zeit t der β-methyldigoxinhaltigen und β-methyldigoxinfreien Perfusion (Perfusion 4). Erläuterung siehe Abb. 26.

Tabelle VI

Glykosidverteilung nach Perfusion von 4 isolierten Rattenlebern mit β-methyldigoxinhaltiger Lösung.

Perfusion	Angebot	Perfusat		Galle		Homogenat		Nachperfusat	
		(µg)	(%)	(µg)	(%)	(µg)	(%)	(µg)	(%)
1	400,20	368,90	92,18	0,40	0,10	0,84	0,21	30,06	7,51
		(368,67)	(92,12)			(0,73)	(0,18)	(31,53)	(7,88)
2	409,95	369,94	90,24	1,02	0,25	1,72	0,42	37,26	9,09
		(367,85)	(89,73)			(1,30)	(0,32)	(40,80)	(9,95)
$\bar{x}$	405,08	369,42	91,21	0,71	0,18	1,28	0,32	33,66	8,30
		(368,26)	(90,93)			(1,02)	(0,25)	(36,17)	(8,92)
3	29,16	21,67	74,30	0,07	0,24	0,88	3,02	6,54	22,44
		(22,01)	(75,48)			(0,74)	(2,54)	(6,41)	(21,98)
4	30,24	22,97	75,95	0,12	0,41	0,64	2,12	6,51	21,52
		(23,08)	(76,32)			(0,55)	(1,82)	(6,61)	(21,86)
$\bar{x}$	29,70	22,32	75,13	0,10	0,33	0,76	2,57	6,53	21,98
		(22,55)	(75,90)			(0,65)	(2,18)	(6,51)	(21,92)

Die in Klammern gesetzten Daten geben die berechneten Werte an

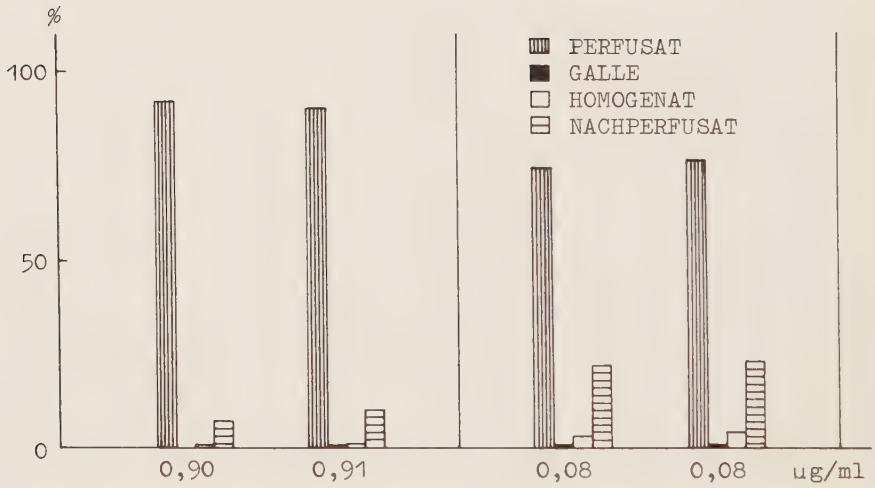


Abb. 34: Glykosidverteilung nach Perfusion von 4 isolierten Rattenlebern mit β-methyldigoxinhaltiger Lösung.

glykosidfreier Lösung in der Leber noch ein Anteil von 0,32 % bzw. 2,57 % verblieb.

Aus den Abbildungen 27, 29, 31 und 33 ist zu erkennen, daß die Zunahme der Glykosidspeicherung zum Zeitpunkt t der Digitalisperfusion, sowohl bei einem hohen als auch bei einem niedrigen Angebot an β-Methyldigoxin der Abnahme des Glykosidgehalts zum Zeitpunkt t' der Nachperfusion entspricht.

2. Stoffwechseluntersuchungen

Durch Extraktion des in 4 Perfusionsversuchen gewonnenen Perfusats und Nachperfusats konnten 98,53 ± 0,08 % (N = 70, $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$) in Dichlormethan überführt werden.
Die dünnschichtchromatographische Untersuchung der einzelnen Extrakte ergab für die jeweils 2 - 3 letzten Nachperfusatfraktionen einen demethylierten Glykosidanteil von durchschnittlich 3,77 % (Abb. 35). Die übrigen Perfusat- und Nachperfusatfraktionen setzten sich ausschließlich aus unverändertem β-Methyldigoxin zusammen (Abb. 36).

Die aus dem Homogenat zu 89,51 ± 1,90 % (N = 4) extrahierte Glykosidmenge bestand bei einem mittleren Angebot an β-Methyldigoxin von K_o = 20,25 µg zu 8,42 ± 0,57 % und bei K_o = 1,49 µg zu 22,84 ± 0,29 % aus Digoxin; der restliche Anteil war unverändertes β-Methyldigoxin (Tab. 7 und Abb. 37 und 38).

Bei der Aufarbeitung der Galle erhielten wir eine dichlormethanextrahierbare Glykosidfraktion von 90,03 ± 0,57 % (N = 4). Der metabolisierte Anteil dieser Menge betrug unabhängig vom Angebot im Mittel 15,33 ± 0,16 %. Davon konnten 6,57 ± 0,06 % als Digoxin, 4,94 ± 0,16 % als Digoxigenin-bis-digitoxosid und 3,82 ± 0,04 % als Digoxigenin-mono-digitoxosid identifiziert werden (Tab. 8 und Abb. 39).
Die am Start liegengebliebene Glykosidmenge war in allen Fällen unverändertes β-Methyldigoxin.

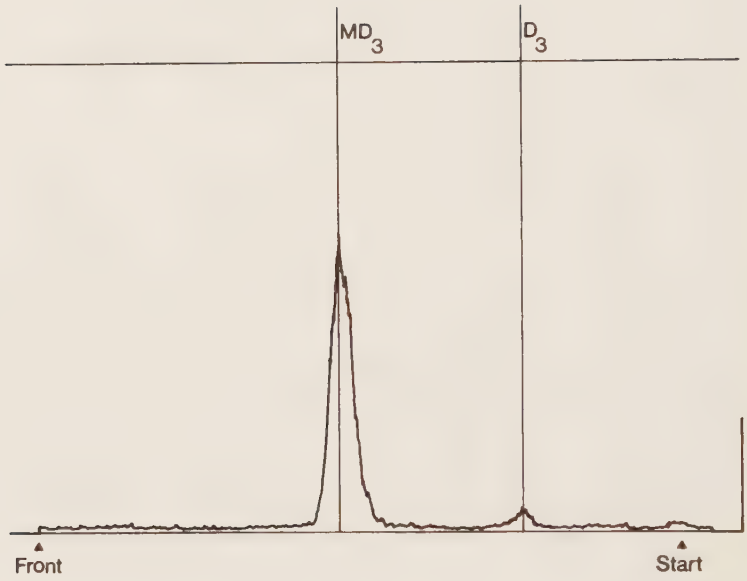


Abb. 35: Dünnschichtchromatogramm des Dichlormethanextraktes der jeweils letzten Nachperfusatfraktion bei den Versuchen mit β-Methyldigoxin. MD_3 = β-Methyldigoxin, D_3 = Digoxin. Fließmittel: I.

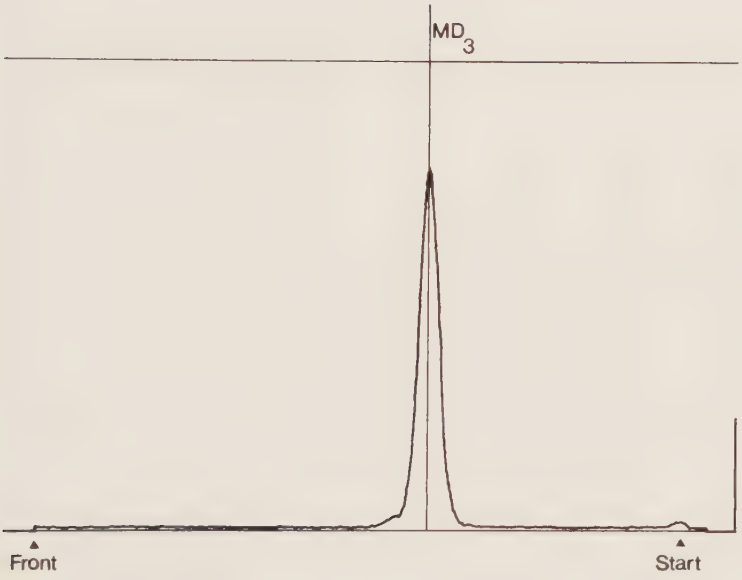


Abb. 36: Dünnschichtchromatographische Trennung der in Dichlormethan extrahierbaren Glykosidfraktion des Perfusats nach Perfusion mit β-methyldigoxinhaltiger Lösung. MD_3 = β-Methyldigoxin. Fließmittel: I.

Tabelle VII

Prozentuale Verteilung der im Homogenat enthaltenen Glykoside, β-Methyldigoxin (MD_3) und Digoxin (D_3).

Perfusion	St[1)] (%)	MD_3 (%)	D_3 (%)
1	2,32	88,70	8,99
2	3,15	89,00	7,85
$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	2,74 ± 0,42	88,85 ± 0,15	8,42 ± 0,57
3	1,61	75,27	23,12
4	1,96	75,49	22,55
$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	1,79 ± 0,18	75,38 ± 0,11	22,84 ± 0,29

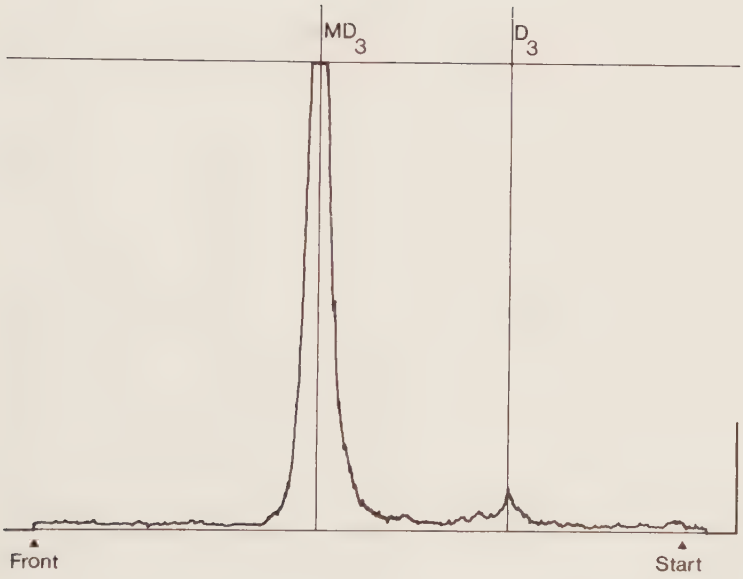


Abb. 37: Dünnschichtchromatographische Trennung der in Dichlormethan extrahierbaren Glykosidfraktion des Homogenats nach Perfusion mit β-methyldigoxinhaltiger Lösung einer Konzentration von c_o = 0,91 µg/ml. Erläuterung siehe Abb. 35.

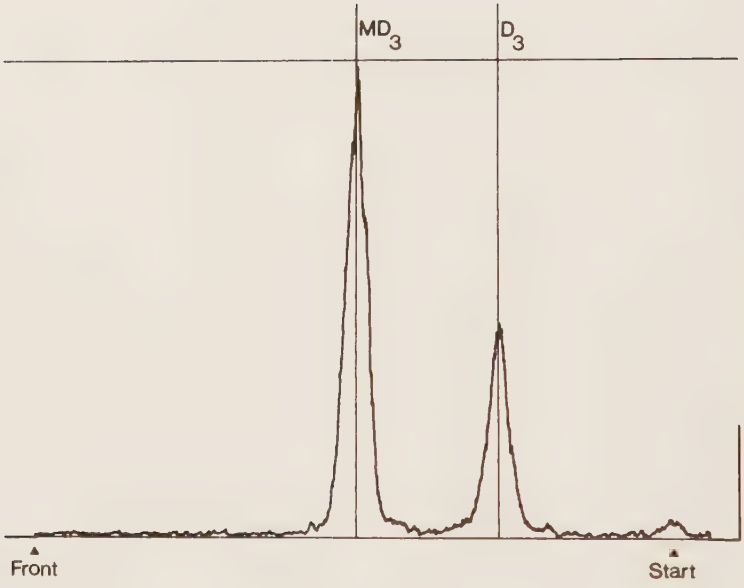


Abb. 38: Dünnschichtchromatographische Trennung der in Dichlormethan extrahierbaren Glykosidfraktion des Homogenats nach Perfusio mit 8-methyldigoxinhaltiger Lösung einer Konzentration von c_o = 0,08 µg/ml. Erläuterung siehe Abb. 35.

Tabelle VIII

Prozentuale Verteilung der mit der Galle ausgeschiedenen Glykoside, β-Methyldigoxin (MD_3), Digoxin (D_3), Digoxigenin-bis-digitoxosid (D_2) und Digoxigenin-mono-digitoxosid (D_1).

Perfusion	St[1] (%)	MD_3 (%)	D_3 (%)	D_2 (%)	D_1 (%)
1	2,24	82,84	6,72	4,48	3,73
2	2,00	82,35	6,56	5,18	3,91
$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	2,12 ± 0,12	82,60 ± 0,25	6,64 ± 0,08	4,83 ± 0,35	3,82 ± 0,09
3	2,15	82,59	6,43	4,95	3,88
4	1,50	83,02	6,55	5,16	3,77
$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	1,83 ± 0,33	82,81 ± 0,22	6,49 ± 0,06	5,06 ± 0,11	3,83 ± 0,06

1) Am Start liegengebliebene Glykosidmenge

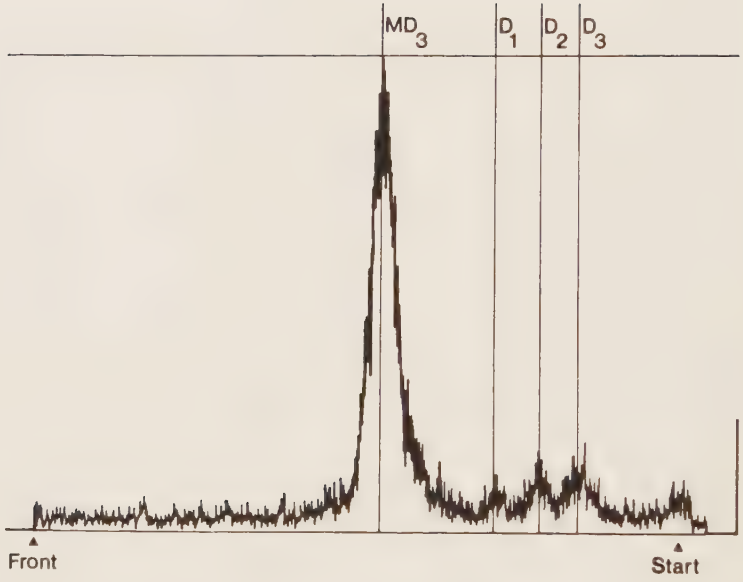


Abb. 39: Dünnschichtchromatographische Trennung der in Dichlormethan extrahierbaren Glykosidfraktion der Galle nach Perfusion mit β-methyldigoxinhaltiger Lösung. MD_3 = β-Methyldigoxin, D_3 = Digoxin, D_2 = Digoxigenin-bis-digitoxosid, D_1 = Digoxigenin-mono-digitoxosid. Fließmittel: II.

DISKUSSION

Die Leber ist für viele oral verabreichte Substanzen das die biologische Verfügbarkeit determinierende Organ. In ihr kann eine mit dem Portalkreislauf angebotene Substanz sowohl durch Speicherung festgehalten als auch im Rahmen des Arzneimittelmetabolismus abgebaut werden (Dengler, 1974; Wagner, 1974; Bodem et al., 1975).

Zum Nachweis einer Retention von unveränderten Herzglykosiden in der Leber bietet sich als eine Methode in vitro die isolierte, nicht zyklische Leberperfusion an. Sie ahmt nach Evans et al. (1973) am besten die Situation in vivo nach, bei der eine Substanz, bevor sie in den Blutkreislauf gelangt, die Leber passieren muß. So ermöglicht sie sowohl eine Aussage über Ausmaß und Geschwindigkeit, mit der ein Arzneimittel von der Leber retiniert wird, als auch über einen eventuellen Metabolismus während einer einmaligen Leberpassage.

Die hier beschriebenen Versuche wurden mit Rattenlebern durchgeführt, da zum einen bei Ratten eine ähnliche metabolische Umwandlung von Herzglykosiden wie beim Menschen vorliegt (Herrmann und Repke, 1964; Lauterbach, 1969). Zum anderen benötigten wir bei einer relativ hohen Dosis von nahezu 1 µg/ml eine Tierspezies mit geringer Glykosidempfindlichkeit (Genuit, 1938; Repke et al., 1965; Kaihara und Leand, 1967; Allen und Schwartz, 1969).

Die gefundenen Meßwerte ließen sich am besten mit einem Modell vereinbaren, wie es in Abbildung 40 dargestellt ist. Ein solches wurde zum erstenmal von Teorell (1937) und später auch von Rescigno und Segre (1961), Riggs (1963), Dost (1968), Krüger-Thiemer (1968), Wagner und Northam (1968), Gibaldi (1969), Greenblatt und Koch-Weser (1975) und Wagner (1975) beschrieben.

Dieses lineare, offene Zwei-Kompartimenten-Modell besteht aus einem zentralen Kompartiment (Nr. 1), welches sich als Ein-

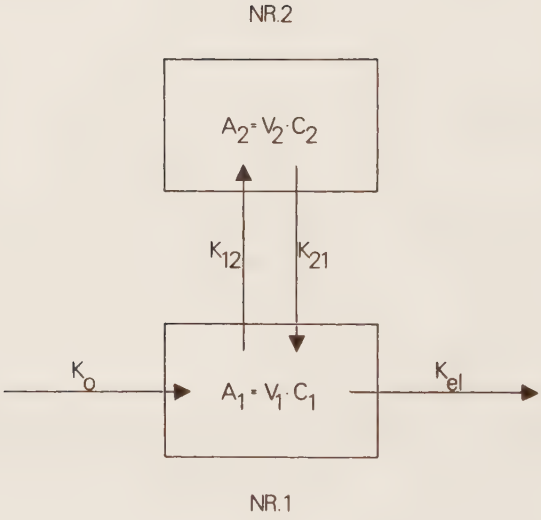


Abb. 40: Zwei-Kompartimenten-Modell (bei konstanter, intravenöser Infusion). Erläuterung siehe Text.

gangs- und Bezugskompartiment darstellt, und einem mit diesem in Verbindung stehenden peripheren oder auch Gewebskompartiment (Nr. 2). Die Beziehung zwischen diesen beiden ist reversibel und erfolgt ebenso wie der Eliminationsprozeß nach einer Kinetik erster Ordnung. Nur die Invasion in das zentrale Kompartiment unterliegt einer Kinetik nullter Ordnung.

Nach Dost (1968) wird das Ausgangskompartiment zwar kinetisch berücksichtigt, aufgrund des irreversiblen Zustandes jedoch nicht mit in das Modell aufgenommen.

Der Transfer vom Kompartiment 1 zum Kompartiment 2 ist durch die Konstante K_{12} und der entgegengesetzte Vorgang durch die Transferkonstante K_{21} gekennzeichnet. Die Größe K_{el} bezieht sich auf die Summe aller irreversiblen Eliminationsprozesse aus dem zentralen Kompartiment.

Mit Hilfe dieser Konstanten lassen sich die komplexeren Größen α und β in folgender Weise bestimmen:

$$\alpha = \frac{1}{2}\left[K_{12} + K_{21} + K_{el} + \sqrt{(K_{12} + K_{21} + K_{el})^2 - 4\,K_{21}K_{el}} \right] \qquad \text{(Gl. 23)}$$

$$\beta = \frac{1}{2}\left[K_{12} + K_{21} + K_{el} - \sqrt{(K_{12} + K_{21} + K_{el})^2 - 4\,K_{21}K_{el}} \right] \qquad \text{(Gl. 24)}$$

Dementsprechend gilt für

$$\alpha + \beta = K_{12} + K_{21} + K_{el} \qquad \text{(Gl. 25)}$$

$$\alpha \cdot \beta = K_{21} \cdot K_{el} \qquad \text{(Gl. 26)}$$

Weiterhin bezugnehmend auf Abbildung 40, bedeutet A_1 die Menge an Substanz, die zur Zeit t im Kompartiment 1 und A_2 die, welche zum gleichen Zeitpunkt im Kompartiment 2 vorhanden ist.

A_1 ergibt sich dabei aus dem Produkt von Volumen (V_1) und Konzentration (C_1) des zentralen Kompartiments; entsprechendes gilt für A_2.

Zur Ermittlung der genannten Größen stehen für den Fall einer intravenösen Dauerinfusion im wesentlichen zwei Methoden zur Verfügung: zum einen das Verfahren von Loo und Riegelmann (1970), zum anderen die Methode von Gibaldi (1969).

Loo und Riegelmann (1970) gehen von der Tatsache aus, daß pharmakokinetische Parameter gewöhnlich mit Hilfe von Exponentialgleichungen hergeleitet sind, die den zeitlichen Konzentrationsverlauf nach einer Bolusinjektion, entsprechend der allgemeinen Form

$$(C_p)_{iv.} = \sum_{i=1}^{n} A_i e^{-\gamma_i t} \qquad \text{(Gl. 27)}$$

beschreiben. Dabei entspricht $(C_p)_{iv.}$ der Plasmakonzentration zur Zeit t nach Gabe einer intravenösen Dosis. Der Koeffizient A_i bestimmt den Schnittpunkt der Geraden mit der Ordinate und γ_i die Steigung der Geraden.

Um die entsprechenden Größen bei einem linearen, offenen Zwei-Kompartimenten-Modell mit konstanter intravenöser Infusion in gleicher Weise bestimmen zu können, entwickelten sie anhand des Konzentrationszeitverlaufes nach Abbruch der Infusion folgende Gleichung:

$$(C_p)_{post} = \frac{A(1-e^{-\alpha\tau})e^{-\alpha t'}}{\alpha\tau} + \frac{B(1-e^{-\beta\tau})e^{-\beta t'}}{\beta\tau} \qquad \text{(Gl. 28)}$$

$$(C_p)_{post} = A'e^{-\alpha t'} + B'e^{-\beta t'} \qquad \text{(Gl. 29)}$$

$(C_p)_{post}$ steht für die Plasmakonzentration zum jeweiligen Zeitpunkt $t' = t - \tau$ der Nachperfusionsperiode und beträgt bei $t' = 0$ $A' + B'$; t ist die Zeit während und τ die Gesamtdauer der Infusion. A und B stellen hypothetische Werte dar, die sich ergeben, wenn die zu applizierende Arzneimittelmenge statt durch eine Bolusinjektion in Form einer Dauerinfusion verabreicht wird. Die Beziehung zwischen A' und A sowie zwischen B' und B ist durch folgende Gleichungen gekennzeichnet:

$$A = \frac{A' \alpha \tau}{1-e^{-\alpha\tau}} \qquad \text{(Gl. 30)}$$

$$B = \frac{B' \beta \tau}{1-e^{-\beta\tau}} \qquad \text{(Gl.31)}$$

Somit lassen sich die pharmakokinetischen Parameter K_{21}, K_{12}, K_{el}, V_1, V_2, Vd_{ss}, Vd_β, $t_{1/2,\alpha}$ und $t_{1/2,\beta}$ mit Hilfe der Konstanten A, B, α und β anhand der Gleichungen 5 - 18 (S. 14 - 16) berechnen.

Ebenso wie Loo und Riegelmann (1970) verwendete Gibaldi (1969) zur Ermittlung dieser Parameter eine Gleichung, die den zeitlichen Verlauf der im zentralen Kompartiment vorhandenen Substanzmenge (X_c) nach Abbruch der Infusion mathematisch beschreibt.

$$X_c = (X_c)_{inf.eq.} \frac{(\beta - K_{el})e^{-\alpha t}}{(\beta - \alpha)} - \frac{(\alpha - K_{el})e^{-\beta t}}{(\beta - \alpha)} \qquad \text{(Gl. 32)}$$

$(X_c)_{inf.eq.}$ ist die Substanzmenge zur Zeit $t = 0$ und entspricht damit dem Betrag während des Infusionsgleichgewichtes.

Für die Plasmakonzentration, die mit der Substanzkonzentration im zentralen Kompartiment korrespondiert, ergibt sich durch entsprechende Substitution daraus eine Gleichung der schon

bekannten Form:

$$(C_p) = R\, e^{-\alpha t} + S\, e^{-\beta t} \qquad \text{(Gl. 33)}$$

mit

$$R = \frac{(X_c)_{inf.eq.}(\beta - K_{el})}{V_c(\beta - \alpha)}$$

und

$$S = \frac{-(X_c)_{inf.eq.}(\alpha - K_{el})}{V_c(\beta - \alpha)}$$

V_c ist das Volumen des zentralen Kompartiments.

Im Gegensatz zu den oben beschriebenen Verfahren ermöglichen die regressionsanalytisch ermittelten Konstanten R, S, α und β aber nicht die Anwendung der Formeln 7, 10, 13 und 16, sondern folgender Gleichungen:

$$K_{el} = \frac{R + S\beta}{R + S} \qquad \text{(Gl. 34)}$$

$$V_1 = \frac{K_o \cdot K_{21}}{\alpha\beta(R+S)} \qquad \text{(Gl. 35)}$$

$$Vd_\beta = \frac{K_o \cdot K_{21} \cdot K_{el}}{\alpha\beta^2(R+S)} \qquad \text{(Gl. 36)}$$

$$Vd_{ss} = \frac{K_o(K_{12} + K_{21})}{\alpha\beta(R+S)} \qquad \text{(Gl. 37)}$$

Einem Modell, wie in Abbildung 40 dargestellt, liegen für die Dauer der Infusion folgende lineare Differentialgleichungen zugrunde, wobei unter kinetischer Linearität seit Krüger-Thiemer (1968) die direkte Proportionalität zwischen den Transferkonstanten und den Konzentrationen oder Konzentrationsunterschieden verstanden wird:

$$\dot{A}_1(t) = \frac{dC_1(t)V_1}{dt} = K_o - (K_{el} + K_{12})\, A_1(t) + K_{21}\, A_2(t) \qquad \text{(Gl. 38)}$$

$$\dot{A}_2(t) = \frac{dC_2(t)V_2}{dt} = K_{12}\, A_1(t) - K_{21}\, A_2(t) \qquad \text{(Gl. 39)}$$

$$\dot{A}_3(t) = \frac{dC_3(t)V_3}{dt} = K_{el}\, A_1(t) \qquad \text{(Gl. 40)}$$

Die Indizes 1 und 2 bezeichnen das zentrale unf periphere Kompartiment, Index 3 das Eliminationskompartiment.

Um die Integrale derart komplexer Differentialgleichungen ermitteln zu können, werden zum einen das Verfahren von Laplace (Doetsch, 1976), zum anderen sogenannte "Input"- und "Dispersion"-Funktionen (Benet, 1972; Wagner, 1975) benötigt.

Wagner (1975) definiert eine "Input"-Funktion als das Maß, mit dem ein bestimmter Betrag einer verabreichten Substanz das zentrale Kompartiment eines Mehrkompartimentenmodells erreicht. Diejenige Menge, die zur Zeit t der Infusion in diesem Kompartiment vorhanden ist, wird von der "Dispersion"-Funktion beschrieben.

Nach Benet (1972) ergibt das Produkt der Laplacetransformationen dieser beiden Funktionen die Laplacetransformation einer Glei-

chung, die den zeitlichen Verlauf einer Substanz im zentralen Kompartiment beschreibt.

$$a_{s,1} = in_s \cdot d_{s,1} \qquad \text{(Gl. 41)}$$

Bei einem offenen Zwei-Kompartimenten-Modell mit konstanter intravenöser Infusion ergeben sich hierfür folgende Gleichungen:

$$in_s = \frac{K_o\,(e^{-aS} - e^{-bS})}{S} \qquad \text{(Gl. 42)}$$

$$d_{s,1} = \frac{S + K_{21}}{(S + \alpha)(S + \beta)} \qquad \text{(Gl. 43)}$$

$$a_{s,1} = \frac{K_o\,(S + K_{21})(e^{-aS} - e^{-bS})}{(S + \alpha)(S + \beta)} \qquad \text{(Gl. 44)}$$

a ist der Beginn und b die Zeit während der Infusion.

Unter Anwendung von $a_{s,1}$ können mit Hilfe der Laplacetransformationen der Differentialgleichungen 38 - 40 der Form

$$S(a_{s,1}) = K_o - (K_{el} + K_{21})\, a_{s,1} + K_{21}\, a_{s,2} \qquad \text{(Gl. 45)}$$

$$S(a_{s,2}) = K_{12}\, a_{s,1} - K_{21}\, a_{s,2} \qquad \text{(Gl. 46)}$$

$$S(a_{s,3}) = K_{el}\, a_{s,1} \qquad \text{(Gl. 47)}$$

$a_{s,2}$ und $a_{s,3}$ bestimmt werden. Die Antilaplacetransformationen von $a_{s,1}$, $a_{s,2}$ und $a_{s,3}$ ermöglichen dann für die Dauer der In-

fusion eine Aussage über den zeitlichen Verlauf einer Substanz im zentralen (A_1) und peripheren Kompartiment (A_2) eines Zwei-Kompartimenten-Modells und geben darüberhinaus Auskunft über das Ausmaß der Elimination (A_3).

Die dazu notwendigen Gleichungen lauten nach Dost (1968) und Gibaldi (1969):

$$A_1(t) = -(K_{12}+K_{el}) \int_o^t A_1(x)dx + K_{21} \int_o^t A_2(x)dx \qquad \text{(Gl. 48)}$$

$$A_1(t) = K_o \left[\frac{K_{21}}{\alpha\beta} - \frac{(K_{21} - \alpha)e^{-\alpha t}}{\alpha(\beta - \alpha)} - \frac{(K_{21} - \beta)e^{-\beta t}}{\beta(\alpha - \beta)} \right] \qquad \text{(Gl. 49)}$$

$$A_2(t) = K_{12} \int_o^t A_1(x)dx - K_{21} \int_o^t A_2(x)dx \qquad \text{(Gl. 50)}$$

$$A_2(t) = K_o \left[\frac{K_{12}}{\alpha\beta} - \frac{K_{12}\, e^{-\alpha t}}{\alpha(\beta-\alpha)} - \frac{K_{12}\, e^{-\beta t}}{\beta(\alpha-\beta)} \right] \qquad \text{(Gl. 51)}$$

$$A_3(t) = K_{el} \int_o^t A_1(x)dx \qquad \text{(Gl. 52)}$$

$$A_3(t) = K_o K_{el} \left[D \cdot t - \frac{E}{\alpha}(1 - e^{-\alpha t}) - \frac{F}{\beta}(1 - e^{-\beta t}) \right] \qquad \text{(Gl. 53)}$$

$$D = \frac{K_{21}}{\alpha\beta} \; ; \quad E = \frac{(K_{21} - \alpha)}{\alpha(\beta-\alpha)} \; ; \quad F = \frac{(K_{21} - \beta)}{\beta(\alpha-\beta)}$$

Die Anwendung der nach dem Verfahren von Loo und Riegelmann (1970) ermittelten Parameter A und B ermöglicht es, die Steigungen der Kurven $A_1(t)$, $A_2(t)$ und $A_3(t)$ darüberhinaus durch folgende Gleichungen zu bestimmen:

$$\dot{A}_1(t) = \frac{V_1}{\tau} (A\, e^{-\alpha t} + B\, e^{-\beta t}) \qquad \text{(Gl. 54)}$$

$$\dot{A}_2(t) = (A + B) \frac{V_1}{\tau} \frac{K_{12}}{\beta - \alpha} (e^{-\alpha t} - e^{-\beta t}) \qquad \text{(Gl. 55)}$$

$$\dot{A}_3(t) = K_{e1} \frac{V_1}{\tau} \int_0^t (A\, e^{-\alpha x} + B\, e^{-\beta x})\, dx \qquad \text{(Gl. 56)}$$

$$\dot{A}_3(t) = K_{e1} \frac{V_1}{\tau} \left[\frac{A}{\alpha} (1 - e^{-\alpha t}) + \frac{B}{\beta} (1 - e^{-\beta t}) \right] \qquad \text{(Gl. 57)}$$

Durch Integration dieser Funktionen lassen sich daher die Werte für A_1, A_2 und A_3 auch mit den Gleichungen 58 - 63 berechnen:

$$A_1(t) = \frac{V_1}{\tau} \int_0^t (Ae^{-\alpha x} + Be^{-\beta x})\, dx \qquad \text{(Gl. 58)}$$

$$A_1(t) = \frac{V_1}{\tau} \left[\frac{A}{\alpha} (1 - e^{-\alpha t}) + \frac{B}{\beta} (1 - e^{-\beta t}) \right] \qquad \text{(Gl. 59)}$$

$$A_2(t) = (A + B) \frac{V_1\, K_{12}}{\tau(\beta - \alpha)} \int_0^t (e^{-\alpha x} - e^{-\beta x})\, dx \qquad \text{(Gl. 60)}$$

$$A_2(t) = (A + B)\,\frac{V_1\,K_{12}}{\tau(\beta-\alpha)}\left[\frac{1}{\alpha}\,(1 - e^{-\alpha t}) - \frac{1}{\beta}\,(1 - e^{-\beta t})\right] \quad \text{(Gl. 61)}$$

$$A_3(t) = \frac{K_{el}\,V_1}{\tau}\int_0^t\int_0^t (A\,e^{-\alpha x} + B\,e^{-\beta x})\,dx\,dx \quad \text{(Gl. 62)}$$

$$A_3(t) = \frac{K_{el}\,V_1}{\tau}\left[\frac{A}{\alpha}\cdot t - \frac{1}{\alpha}\,(1 - e^{-\alpha t}) + \frac{B}{\beta}\cdot t - \frac{1}{\beta}\,(1 - e^{-\beta t})\right] \quad \text{(Gl. 63)}$$

Entsprechend der Gleichungen für $A_1(t)$ und $A_2(t)$ nähert sich die im zentralen und peripheren Kompartiment enthaltene Substanzmenge mit zunehmender Dauer der Infusion asymptotisch einem Betrag von:

$$A_1(t) = (A_1)_{inf.eq.} = K_o K_{21}/\alpha\beta \quad \text{für } t \to \infty \quad \text{(Gl. 64)}$$

$$A_2(t) = (A_2)_{inf.eq.} = K_o K_{12}/\alpha\beta \quad \text{für } t \to \infty \quad \text{(Gl. 65)}$$

Die im Gesamtsystem vorhandene Menge, $A_s(t)$, strebt dabei gegen die Summe der Einzelbeträge beider Kompartimente.

$$A_s(t) = (A_s)_{inf.eq.} = K_o\,(K_{21} + K_{12})/\alpha\beta \quad \text{für } t \to \infty \quad \text{(Gl. 66)}$$

Für $t \to \infty$ enthält das zentrale Kompartiment einen Anteil der Gesamtmenge, $(A_s)_{inf.eq.}$, von:

$$(f_c)_{ss} = \lim \left[f_c\right]_{t\to\infty} = \frac{K_{21}}{K_{21} + K_{12}} \quad \text{(Gl. 67)}$$

Der Zustand, in dem das Verhältnis von $(A_1)_{inf.eq.}/(A_2)_{inf.eq.}$ gleich dem Quotienten der Transferkonstanten K_{21}/K_{12} entspricht wird Infusionsgleichgewicht oder steady-state genannt. Voraussetzung ist, daß beide Kompartimente einen konstanten Betrag enthalten, so daß die Änderung in jedem von ihnen gleich Null ist.

Für diesen Fall ist die Einströmgeschwindigkeit gleich der Ausströmgeschwindigkeit, womit sich nach Dost (1968) folgende Beziehung ergibt:

$$v = \text{const.} \cdot y' \qquad \text{(Gl. 68)}$$

(Einströmgeschwindigkeit) (Ausströmgeschwindigkeit)

Die Einströmgeschwindigkeit v entspricht in Abbildung 40 der Konstanten K_o, y' der Konzentration C_1 im steady-state ($C_{1,ss}$).

Die Konstante (const.) mit der Einheit ml/min, Clearance genannt, ist nach Gillette und Pang (1977) "die Rate, mit der ein Stoff durch die gesamten Stoffwechsel- und Eliminationsprozesse aus dem Körper ausgeschieden wird, dividiert durch die Konzentration des Stoffes in einem Bezugskompartiment, welches im Idealfall das arterielle Blut darstellt".

Für Greenblatt und Koch-Weser (1975) ist die Clearance bei einem Zwei-Kompartimenten-Modell ein direktes Maß für die Substanzelimination aus dem zentralen Kompartiment.

Bei der Berechnung der Clearance ist zu beachten, daß sie nur unter der Bedingung eines Gleichgewichts zwischen zentralem und peripherem Kompartiment gültig ist, so daß die Abnahme im zentralen Kompartiment (Bezugskompartiment) allein durch Elimination und Metabolismus und nicht durch Verteilung ins periphere Kompartiment erfolgt.

Nach Riggs (1963) sind zwei Kompartimente im Gleichgewicht, wenn die vom Kompartiment 1 an Kompartiment 2 pro Zeiteinheit abgegebene Substanzmenge gleich der ist, die ihm von Kompartiment 2 in der gleichen Zeit zufließt. Dies bedeutet, daß das Verhältnis der in beiden Kompartimenten vorhandenen Beträge, Verteilungsverhältnis genannt, konstant ist.
Sind diese Beträge darüberhinaus konstant, so ergibt sich ein steady-state.

Für den Fall einer intravenösen Dauerinfusion kann demnach die Clearance zum einen durch das Verhältnis der Einströmgeschwindigkeit (K_o) zur Konzentration C_1 im steady-state ($C_{1,ss}$) (Dost, 1968; Gillette, 1973; Greenblatt und Koch-Weser, 1975 a) zum anderen einige Zeit nach Abbruch der Infusion bestimmt werden, wenn die Rückverteilung (siehe unten) zwischen beiden Kompartimenten beendet und das Verhältnis $A_1(t')/A_2(t')$ konstant ist (Gl. 19 - 22, entnommen aus Rowland, 1972; Gillette, 1973; Rowland et al., 1973; Perrier und Gibaldi, 1974; Wilkinson und Shand, 1975).

Das Verteilungsvolumen, von Riggs (1963) und Gibaldi (1969) als Proportionalitätskonstante der im Gesamtsystem vorhandenen Substanzmenge und der Konzentration im zentralen Kompartiment definiert, lautet für das Infusionsgleichgewicht:

$$(Vd)_{ss} = \frac{(A_s)_{inf.eq.}}{(A_1)_{inf.eq.} / V_1} \qquad \text{(Gl. 69)}$$

Wird die Infusion zum Zeitpunkt $t = \tau$ (τ = Dauer der Infusion) abgebrochen, so fallen die Beträge im zentralen und peripheren Kompartiment nach einer Kinetik, die der eines Abflußgleichgewichts entspricht, ab (Dost, 1968).

Diese Nachinfusionsperiode läßt sich

1) durch die Analyse der Substanzmenge, die zum jeweiligen Zeitpunkt t' nach Abbruch der Infusion in den einzelnen Kompartimenten vorhanden ist,

2) durch Berechnung der Abnahme der im Kompartiment 1 und 2 vorhandenen Substanzmenge, bzw. Zunahme der des Ausgangskompartiments zum Zeitpunkt t',

3) durch Ermittlung der Substanzmenge, die bis zum Zeitpunkt t' aus den Kompartimenten abgegeben bzw. im Ausgangskompartiment aufgenommen,

beschreiben.

Fall 1 kann durch folgende Gleichungen ausgedrückt werden:

$$A_1(t) = A_1(\tau)\left[\frac{(\beta - K_{el})\ e^{-\alpha t'}}{\beta - \alpha} - \frac{(\alpha - K_{el})\ e^{-\beta t'}}{\beta - \alpha}\right] \qquad \text{(Gl. 70)}$$

$$A_1(t') = V_1 \cdot (A' \cdot e^{-\alpha t'} + B' \cdot e^{-\beta t'}) \qquad \text{(Gl. 71)}$$

$$A_2(t') = A_2(\tau)\left[\frac{\beta}{\beta - \alpha} \cdot e^{-\alpha t'} - \frac{\alpha}{\beta - \alpha} \cdot e^{-\beta t'}\right] \qquad \text{(Gl. 72)}$$

$$A_3(t') = A_1(\tau) + A_2(\tau) - A_1(t') - A_2(t') \qquad \text{(Gl. 73)}$$

Die Gleichungen 70 - 72 bringen zum Ausdruck, daß sich nach anfänglicher Rückverteilung zwischen zentralem und peripherem Kompartiment mit beginnender β-Phase ein Gleichgewicht einstellt, in dem das Verteilungsverhältnis

$$\lim (A_1/A_2)_{t\to\infty} = A_1(\tau)/A_2(\tau) \cdot (\alpha - K_{el})/\alpha \qquad \text{(Gl. 74)}$$

beträgt.

Unter der Bedingung, daß am Ende der Infusion annähernd ein steady-state erreicht ist, ergibt sich für

$$\lim (A_1/A_2)_{t\to\infty} = (K_{21} - \beta)\, K_{12} \qquad \text{(Gl. 75)}$$

Das diesem sogenannten Pseudoverteilungsgleichgewicht zugehörige Verteilungsvolumen $(Vd)_\beta$ ist durch das Verhältnis der sich im Gesamtsystem nach Erreichen des Gleichgewichts befindenden Substanzmenge und der Konzentration im zentralen Kompartiment, gegeben (Gibaldi et al., 1969; Gillette, 1973).

Den Abfall der Gesamtmenge, den das zentrale Kompartiment in dieser Phase enthält ($f_{c,\beta}$), entspricht dem Quotienten $V_1/(Vd)_\beta$.

Die Ab-, bzw. Zunahme in den einzelnen Kompartimenten zum Zeitpunkt t' (Fall 2) erhält man aus den Ableitungen der Funktionen $A_1(t')$, $A_2(t')$ und $A_3(t')$.

$$\dot{A}_1(t') = - A_1(\tau) \left[\frac{\alpha(\beta - K_{el}) \cdot e^{-\alpha t'}}{(\beta - \alpha)} + \frac{\beta(\alpha - K_{el}) \cdot e^{-\beta t'}}{(\beta - \alpha)} \right] \qquad \text{(Gl. 76)}$$

$$\dot{A}_2(t') = - A_2(\tau) \left[\frac{\alpha \cdot \beta \cdot e^{-\alpha t'}}{(\beta - \alpha)} - \frac{\alpha \cdot \beta \cdot e^{-\beta t'}}{(\beta - \alpha)} \right] \qquad \text{(Gl. 77)}$$

$$\dot{A}_3(t') = \dot{A}_1(t') + \dot{A}_2(t') \qquad \text{(Gl. 78)}$$

Durch Integration dieser Differentialgleichungen wird Fall 3 mathematisch erfaßt.

$$\int_0^{t'} \dot{A}_1(x)\,dx = A_1(\tau)\left[\frac{(\beta - K_{el})(1 - e^{-\alpha t'})}{(\beta - \alpha)} + \frac{(\alpha - K_{el})(1 - e^{-\beta t'})}{(\beta - \alpha)}\right] \quad \text{(Gl. 79)}$$

$$\int_0^{t'} \dot{A}_2(x)\,dx = A_2(\tau)\left[\frac{\beta \cdot (1 - e^{-\alpha t'})}{(\beta - \alpha)} - \frac{\alpha \cdot (1 - e^{-\beta t'})}{(\beta - \alpha)}\right] \quad \text{(Gl. 80)}$$

$$\int_0^{t'} \dot{A}_3(x)\,dx = \int_0^{t'} \dot{A}_1(x)\,dx + \int_0^{t'} \dot{A}_2(x)\,dx \quad \text{(Gl. 81)}$$

$$\int_0^{t'} \dot{A}_3(x)\,dx = A_3(t') \quad \text{(Gl. 82)}$$

Erfolgt der Abbruch der Infusion zu einer Zeit, in der ein steady-state erreicht ist, so daß das zentrale Kompartiment einen Betrag von $(A_1)_{inf.eq.}$ und das periphere einen Betrag von $(A_2)_{inf.eq.}$ enthält, dann entspricht die Aufnahme während der Infusion der Abnahme der Nachinfusionsperiode; d.h. die Gleichungen für Fall 2 und 3 entsprechen damit denen für $\dot{A}_1(t)$, $\dot{A}_2(t)$ und $\dot{A}_3(t)$, bzw. $A_1(t)$, $A_2(t)$ und $A_3(t)$ während der Infusion.

Im Rahmen unserer Versuche schien uns die Anwendung eines Zwei-Kompartimenten-Modells mit konstanter intravenöser Infusion, trotz der damit verbundenen Vereinfachung, aus folgenden Gründen zulässig:

1) Die im Perfusat und Nachperfusat gemessene ^{3}H-Aktivität stellte sich dünnschichtchromatographisch fast ausschließlich als unverändertes Digoxin, bzw. β-Methyldigoxin dar. Darüberhinaus fiel auf das anfallende Tritiumwasser nur ein Anteil von 0,62 ± 0,10 %, der die stabile, radioaktive Markierung der Glykosidmoleküle deutlich macht. Die Kinetik der ^{3}H-Aktivität konnte demnach mit der des jeweils verabreichten Glykosids gleichgesetzt werden.

2) Die biliäre Ausscheidung der beiden angebotenen Glykoside war bei einem Anteil von ca. 1 % der applizierten Dosis ohne größere Bedeutung.

3) Eine geringe Rolle spielte auch die metabolische Umwandlung von Digoxin und β-Methyldigoxin (ca. 15 %).

Zur kinetischen Untersuchung der Glykosidspeicherfähigkeit einer isolierten, nicht zyklisch perfundierten Leber kann somit ein Modell in Anspruch genommen werden, das unter Vernachlässigung der sezernierten Galle, durch einen Ausgang (aus dem vaskulären Kompartiment) und ein extravaskuläres Kompartiment charakterisiert ist (Abb. 41).

Das Perfusionsmodell in Abbildung 41 beruht zum einen auf der Annahme, daß die Konzentration des mit der Flußrate $\dot{V}$ in die Leber einfließenden Mediums, gleich der ist, mit welcher die glykosidhaltige Lösung das Reservoir verläßt, C_r, (Rowland et al., 1973). Zum anderen ist davon auszugehen, daß die Konzentration des während Perfusion und Nachperfusion ausfließenden Mediums derjenigen innerhalb der Leberkapillaren entspricht (Pang und Rowland, 1975; Shand et al., 1975).

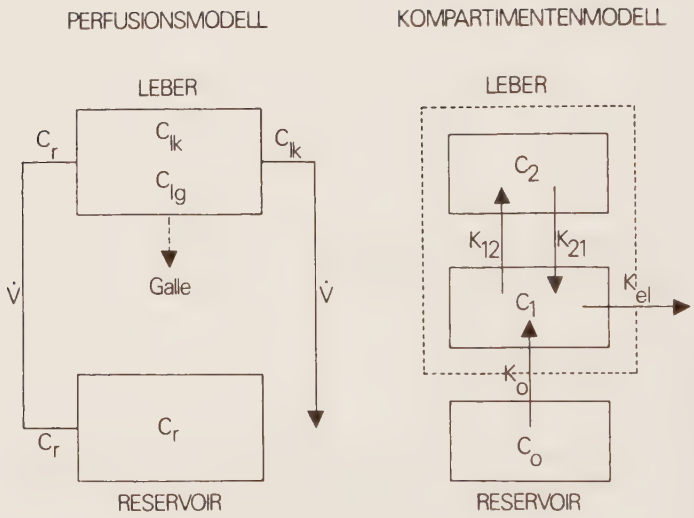


Abb. 41: Vergleich des klassischen Zwei-Kompartimenten-Modells bei konstanter intravenöser Infusion mit einem Modell der nicht zyklischen Leberperfusion. Erläuterung der einzelnen Symbole siehe Text.

Dies bedeutet nach Gillette und Pang (1977), daß die Flüssigkeit in der Leber und die, welche aus ihr herausfließt, ein und dasselbe Kompartiment, und zwar das zentrale eines Zwei-Kompartimenten-Modells darstellt. Während C_{1k} die Konzentration innerhalb der Leberkapillaren bedeutet, die der des Kompartiments 1 (C_1) entspricht, ist C_{1g} die Konzentration im Lebergewebe. Alle übrigen Konstanten sind aus Abbildung 40 bekannt.

Für ein derartiges Perfusionsmodell ergibt sich eine Clearance, die unter Vernachlässigung der sezernierten Galle, der jeweiligen Flußrate entspricht. Sie beträgt für unsere Versuche mit Digoxin bzw. β-Methyldigoxin 20,84 ± 1,43 ml/min (N = 7), bzw. 21,43 ± 1,09 ml/min (N = 4) bei einer Flußrate von 18,34 ± 0,51 ml/min, bzw. 21,10 ± 0,78 ml/min.

Die in den einzelnen Perfusat- und Nachperfusatfraktionen enthaltenen Glykosidmengen entsprechen denjenigen, die von der Leber, d.h. vom Kompartiment 1 und 2, zum jeweiligen Zeitpunkt t der Glykosidperfusion nicht retiniert, $\dot{A}_3(t)$, bzw. zur Zeit t' der Nachperfusion wieder abgegeben werden, $\dot{A}_3(t')$.
Die Summe der Einzelfraktionen enthält demnach diejenige Glykosidmenge, die bis zur Zeit t der Perfusion, bzw. t' der Nachperfusion vom Ausgangskompartiment aufgenommen wird, $A_3(t)$, $A_3(t')$. Unter Annahme, daß die gemessene Glykosidkonzentration der des zentralen Kompartiments zum Zeitpunkt t - 0,5 entspricht, gilt für $A_3(t)$, bzw. $A_3(t')$:

$$A_3(t) = K_{el} \int_{o}^{t} V_1 \cdot C_1(x)\, dx = \sum_{o,5}^{t-o,5} \dot{V} \cdot C_g(x) \qquad \text{(Gl. 83)}$$

$$A_3(t') = K_{el} \int_{o}^{t'} V_1 \cdot C_1(x)\, dx = \sum_{o,5}^{t'-o,5} \dot{V} \cdot C_g(x) \qquad \text{(Gl. 84)}$$

$C_g(t)$ ist die gemessene Glykosidkonzentration der pro Minute gesammelten Mediumfraktion.

Der biexponetielle Abfall der Digoxin- und β-Methyldigoxinkonzentrationen eines während der Nachperfusion isolierter Rattenleber ausfließenden Mediums steht in gutem Einklang mit dem biphasischen Verlauf der Serumkonzentration nach intravenöser und oraler Applikation von Digoxin bzw. β-Methyldigoxin beim Menschen (Doherty et al., 1961; Doherty und Perkins, 1962; Rennekamp et al., 1972; Dengler et al., 1973; Wildmeister et al., 1973; Bodem et al., 1975; Koup et al., 1975) und intakten Tier (Rietbrock et al., 1972; Voigtländer et al., 1972; Harrison und Gibaldi, 1976).

Wie sich im Falle der untersuchten Glykoside zeigt, hat das aus einem vaskulären und extravaskulären Kompartiment bestehende Zwei-Kompartimenten-Modell seine Güligkeit, sowohl für den lebenden Organismus als auch für die isolierte Leber. Dies kann auf die Weise erklärt werden, daß das Blut in den Leberkapillaren, dessen Glykosidkonzentration im Perfusat und Nachperfusat gemessen wird, ein Teil des im Organismus vorhandenen Blutvolumens ist und das Lebergewebe ein Teil der gesamten Organgewebe.

Da β-Methyldigoxin als Digoxinabkömmling ein weniger polares und damit lipoidlöslicheres Glykosid darstellt, dessen relativer enteraler Wirkungsquotient um 20 - 30 % höher liegt als der des Digoxins selbst (Beermann, 1972; Johnson et al., 1976), ist es von besonderem Interesse, die bei unseren Versuchen gewonnenen pharmakokinetischen Parameter in dieser Hinsicht zu vergleichen. Dazu sollen jeweils die Mittelwerte der in Tabelle 2 und 5 enthaltenen Daten herangezogen werden.

So ergibt sich für die Transferkonstante K_{12} ein bemerkenswerter Unterschied zwischen diesen beiden Glykosiden.
K_{12} beträgt bei 5 Digoxinversuchen mit einer mittleren Glykosidkonzentration des Perfusionsmediums von 0,89 µg/ml im Durchschnitt 0,2985 min^{-1} und liegt damit um das dreifache höher als bei zwei entsprechenden Versuchen mit β-Methyldigoxin (0,09896 min^{-1}).

Da die Geschwindigkeitskonstante des entgegengesetzten Prozesses, K_{21}, mit 0,2454 min^{-1} für Digoxin und 0,2302 min^{-1} für β-Methyldigoxin bei beiden Glykosiden annähernd übereinstimmt, ist die im Gewebekompartiment während des Infusionsgleichgewichts enthaltene Digoxinmenge 3 mal größer als die entsprechende an β-Methyldigoxin. Die von der Leber insgesamt aus dem Perfusionsmedium extrahierte Digoxinmenge ($A_{L,max}$) ist damit, mit durchschnittlich 52,21 µg, um das ca. 1,4-fache größer als die von β-Methyldigoxin mit 37,30 µg.

Das Verteilungsvolumen Vd_{ss} ist bei Digoxin um den gleichen Faktor größer als bei β-Methyldigoxin (67,42 ml, bzw. 42,45 ml), da die Glykosidkonzentration des zentralen Kompartiments bei gleicher Invasionskonstanten und gleicher Clearance für beide Glykoside übereinstimmt.

Weiterhin ergibt sich aufgrund der identischen Transferkonstante K_{21} eine direkte Proportionalität zwischen dem Produkt der Konstanten α und β und der Eliminationskonstanten, K_{el}. Auf diese Weise wird verständlich, daß sich bei nahezu gleichem Wert des genannten Produkts, im Mittel 0,1726 min^{-2} bzw. 0,1829 min^{-2}, die Größe K_{el} mit 0,7071 min^{-1} bei Digoxin gegenüber β-Methyldigoxin mit 0,7936 min^{-1} nur geringfügig ändert.

Man erhält zwar ein gleiches Produkt von α und β, erkennt jedoch mittels Gleichung 25 bei nicht übereinstimmender Transferkonstanten K_{12} einen Unterschied in ihrer Summe. Dieser ist weniger auf den Wert für α (1,093 min^{-1} bei Digoxin und 0,9250 min^{-1} bei β-Methyldigoxin) als auf den für β (0,1579 min^{-1} bzw. 0,1977 min^{-1}) zurückzuführen. Dies bedeutet einen entsprechenden Unterschied in der Halbwertzeit $t_{1/2,\beta}$.

Während das Verteilungsverhältnis A_1/A_2 im steady-state bei β-Methyldigoxin um das 3-fache größer ist als bei Digoxin (2,33 bzw. 0,82), stimmt dieses Verhältnis im Pseudoverteilungsgleichgewicht der Nachperfusion bei beiden Glykosiden überein (0,33 bzw. 0,29).

Sowohl im steady-state als auch im Pseudoverteilungsgleichgewicht ergibt sich für Digoxin im peripheren Kompartiment durchschnittlich ein größerer Glykosidbetrag als im zentralen (Abb. 5, 9 und 13). Vom Mittel abweichend verhalten sich die Perfusionen 2 und 4 (Abb. 7 und 11). Bei diesen wie auch bei den Perfusionen mit β-Methyldigoxin ist das Verteilungsverhältnis A_1/A_2 im steady-state größer als eins.

Darüberhinaus ist festzustellen, daß für beide Glykoside das genannte Verhältnis im Pseudoverteilungsgleichgewicht kleiner ist als im steady-state. Somit ist der Glykosidanteil im Lebergewebe, f_T, während der β-Phase der Nachperfusion mit 0,77 für Digoxin und 0,75 für β-Methyldigoxin größer als im Infusionsgleichgewicht der Glykosidperfusion (0,55 bzw. 0,30).

Da unter den erwähnten Konstanten vor allem die Werte für K_{12} und $t_{1/2,\beta}$ bei Digoxin im Vergleich zu dem lipophileren β-Methyldigoxin größer sind, benötigt man für Digoxin zum Erreichen eines Infusionsgleichgewichts eine entsprechend größere Zeit.

Eine größere Halbwertzeit der β-Phase ergibt sich für Digoxin bei der oben genannten Konzentration des Perfusionsmediums nicht nur im Vergleich zur entsprechenden Konzentration von β-Methyldigoxin, sondern auch im Vergleich zu seiner 50-fach kleineren Konzentration. So nimmt sie annähernd um das 4-fache zu, wenn der Leber nicht 0,89 µg/ml glykosidhaltiger Lösung, sondern 0,018 µg/ml angeboten werden.

Auch die Verteilungsphase hält bei der niedrigeren Konzentration länger an. Ihre Halbwertzeit, $t_{1/2,\alpha}$, vergrößert sich aber im Vergleich zu $t_{1/2,\beta}$ nur um das Doppelte.

Die von der Leber während des Infusionsgleichgewichts maximal zurückgehaltene Digoxinmenge reduziert sich bei einer 50-fach kleineren Konzentration im zentralen Kompartiment im Mittel auf 6,72 µg und nimmt damit um das 7 - 8 fache ab, während die

Volumina des zentralen und peripheren Kompartiments, V_1 und V_2, sowie Vd_{ss} im gleichen Verhältnis zunehmen. Entsprechend der Abnahme von β nimmt Vd_β bei gleicher Clearance um das 4-fache zu (Gl. 22).

Weiterhin ist festzustellen, daß in dem Maße, wie das Produkt aus α und β abfällt, die Konstante K_{el} von 0,7071 min^{-1} auf 0,0993 min^{-1} abnimmt, so daß die Transferkonstante K_{21} in etwa gleich bleibt (0,2454 min^{-1} zu 0,3149 min^{-1}). Ebenso verändert sich der Wert für K_{12} mit 0,2985 min^{-1} gegenüber 0,3407 min^{-1} nur geringfügig.

Dies bedeutet für das Infusionsgleichgewicht eine konzentrationsunabhängige Verteilung zwischen zentralem und peripherem Kompartiment. Dagegen ist im Pseudoverteilungsgleichgewicht das Verhältnis A_1/A_2 mit 0,76 bei c_o = 0,018 µg/ml gegenüber 0,29 bei c_o = 0,89 µg/ml ca. 3 mal so groß. In diesem Sinne ist die Glykosidspeicherung des Lebergewebes während der β-Phase der Nachperfusion kleiner als im steady-state. Damit verhält sich Digoxin in einer Konzentration von c_o = 0,018 µg/ml umgekehrt zu einer, die um das 50-fache größer ist.

Vergleicht man β-Methyldigoxinperfusionen, die mit einer Glykosidkonzentration von c_o = 0,90 µg/ml erfolgten, mit denen bei einer Konzentration von c_o = 0,075 µg/ml in gleicher Weise wie entsprechende Versuche mit Digoxin, so erhält man auch in diesen Fällen für das Infusionsgleichgewicht ein konzentrationsunabhängiges Verteilungsverhältnis A_1/A_2.

Darüberhinaus ist für β-Methyldigoxin das entsprechende Verhältnis des Pseudoverteilungsgleichgewichts ebenso konzentrationsunabhängig, da sich die relevanten Größen, K_{12}, K_{21} und β bei der 12-fach kleineren Konzentration nur unwesentlich verändern. Gleiches gilt für das Verteilungsvolumen Vd_β, nicht jedoch für das Verteilungsvolumen im steady-state, das entsprechend der Halbwertzeit der Verteilungsphase und der Eliminationskonstanten K_{el} um das 2 - 3 fache zunimmt.

Verfolgt man den zeitlichen Verlauf der zurückbehaltenen Glykosidmenge, so steigt in Abhängigkeit vom Angebot der Gehalt an Digoxin wie an β-Methyldigoxin im zentralen und peripheren Kompartiment zuerst schnell und dann immer langsamer an (z.B. Abb. 13 und 17, 28 und 32). Nach einiger Zeit nähert er sich einem Maximalwert, d.h. dem Wert, den er im steady-state bei einer bestimmten Einströmgeschwindigkeit und einer bestimmten Clearance erhält.

Aus den Abbildungen 5, 7, 9, 11 und 13 bzw. 26 und 28 geht hervor, daß bei einer durchschnittlichen Glykosidkonzentration von c_o = 0,90 µg/ml schon nach ca. zwei Minuten im Kompartiment 1 die gleiche Menge sowohl an Digoxin als auch an β-Methyldigoxin enthalten ist wie in Kompartiment 3. Dies bedeutet bei einer unter den oben genannten Bedingungen länger als 2 min andauernden Perfusion, daß der von der Leber nicht zurückgehaltene Glykosidanteil (Perfusat) zu jedem Zeitpunkt t der Perfusion und damit bei jeder Dosis D ($D = K_o \cdot t$, für $t>2$) größer ist als der von ihr retinierte (Homogenat und Nachperfusat).

Da die Elimination aus dem Gesamtsystem (Leber) proportional zum Glykosidgehalt von Kompartiment 1 erfolgt (Gl. 40), wird anfangs bei gleicher Zufuhr zunächst nur eine geringe Substanzmenge pro Zeiteinheit entfernt und mit zunehmender Dauer der Perfusion immer mehr, bis die ausgeschiedene Menge gleich der pro Zeiteinheit zugeführten ist. Dann erhalten die Glykosidmengen des zentralen und peripheren Kompartiments konstante Werte, so daß zum einen die Zunahme gegen Null strebt (Kompartiment 1 und 2) zum anderen der Glykosidgehalt des Eliminationskompartiments (Perfusat) linear ansteigt (z.B. Abb. 14 und 18, 29 und 33).

Je kleiner nämlich das Verhältnis T_{ss}, dem Zeitpunkt, ab welchem von einem steady-state gesprochen werden kann, zur Perfusionsdauer T_p ist, um so weniger behält die Leber von einer ihr angebotenen Glykosidmenge zurück, und um so größer ist der im Perfusat enthaltene Anteil. Er beträgt für die Digoxinperfu-

sion (1) 71,45 % und für die β-Methyldigoxinperfusionen (1) und (2) im Mittel 91,21 % bei einem Verhältnis T_{ss}/T_p von 1,49 bzw. 0,71.

In gleicher Weise erklärt sich für Perfusionen mit kleinerer Digoxin-, bzw. β-Methyldigoxinkonzentration, die eine wesentlich längere Zeit bis zum Erreichen eines steady-states benötigen (Tab. 2 und 5), der relativ kleinere Glykosidanteil im Perfusat (Tab. 1 und 6 sowie Abb. 2 und 34). So werden von 6,80 µg Digoxin, die der Leber in 20 min angeboten werden (Perfusion 6), 59,92 % von ihr zurückbehalten im Vergleich zu 15,58 % bei einem in der gleichen Zeit erfolgten Angebot von 340,20 µg (Perfusion 5, errechneter Wert). Das oben genannte Verhältnis beträgt in diesen Fällen 3,13 bzw. 0,82.

Ein ähnliches Bild zeigen die β-Methyldigoxinperfusionen. Hier ergibt sich bei einem Angebot von 29,70 µg und bei einem Verhältnis T_{ss}/T_p von 0,93 nach 20 min ein von der Leber retinierter Glykosidanteil von 24,55 % gegenüber 8,62 % bei einer Dosis von 405,08 µg und einem entsprechenden Verhältnis von 0,71.

Als Maß für die Fähigkeit einer nicht zyklisch perfundierten Leber, unveränderte Substanz zu akkumulieren, betrachtet Evans et al. (1973) das Verhältnis der Substanzkonzentration in der Leber am Ende einer Perfusion zu der der letzten Perfusatfraktion.

Da sowohl für unsere Digoxin-, als auch β-Methyldigoxinperfusionen dieses Leber/Perfusat-Verhältnis bei 20 minutiger Dauer von 40,86 bzw. 10,24 auf 6,61 bzw. 4,97 bei einem Anstieg der Digoxin-, bzw. β-Methyldigoxinkonzentration der Leber von 0,38 µg/g, bzw. 0,72 µg/g auf 5,02 µg/g bzw. 4,21 µg/g abfällt, ergibt sich damit für beide Glykoside eine dosisabhängige Glykosidextraktion der Leber.

Levy (1968) erklärt eine dosisabhängige Substanzelimination mit der Sättigung metabolischer Enzyme. Unsere Ergebnisse zeigen

aber in dieser Hinsicht einen konzentrationsunabhängigen, metabolisierten Glykosidanteil in Galle und Homogenat von nur ca. 15 % sowohl für Digoxin als auch für β-Methyldigoxin.

Auch eine dosisabhängige Bindung beider Glykoside an das Albumin (Rinderalbumin) des Perfusionsmediums kommt bei einem konzentrationsunabhängigen, gebundenen Anteil von ca. 10 % als Ursache nicht in Betracht. Dieser Wert liegt etwa um die Hälfte niedriger als der für Humanalbumin ermittelte (Scholtan et al., 1966; Kuschinsky, 1969; Wirth et al., 1971; Ohnhaus et al., 1972; Dengler et al., 1973; Koup et al., 1975; Zilly et al., 1975).

Evans et al. (1973) interpretieren den Abfall des Leber/Perfusat-Verhältnisses bei ansteigender Dosis im Sinne einer nicht linearen Bindung an Gewebsproteine. Sie gehen dabei von zwei unabhängigen Bindungsstellen im Gewebe aus, wovon die eine durch hohe Affinität und geringe Kapazität und die andere durch geringe Affinität und große Kapazität gekennzeichnet ist. Das dosisabhängige Verhalten der hepatischen Extraktion könnte demnach auf die Sättigung des Ortes mit hoher Affinität zurückgeführt werden.

Unsere Ergebnisse zeigen jedoch, daß die Grenze der Akkumulationsfähigkeit der Leber nicht durch die Sättigung von Kapazitäten zweier Gewebsbindungsstellen, sondern durch die während des Infusionsgleichgewichts bei einer bestimmten Einströmgeschwindigkeit in Gewebe und Flüssigkeit enthaltenen Glykosidmengen bedingt ist. Das Ausmaß, mit dem die Leber einen Teil der ihr in einer Zeit T_p angebotenen Dosis akkumuliert, läßt sich anhand des beschriebenen Verhältnisses T_{ss}/T_p ermitteln.

Die Studien mit Digoxin und β-Methyldigoxin bei isolierten, nicht zyklisch perfundierten Rattenlebern haben deutlich gemacht, daß sich die Leber für die untersuchten Glykoside im Hinblick auf Verteilung und Extraktionsverhalten entsprechend einem klassischen Zwei-Kompartimenten-Modell verhält. Anhand von

weiteren Perfusionen dieser Art ist nun zu prüfen, ob sich die für jeweils zwei unterschiedliche Glykosidkonzentrationen gefundenen Ergebnisse auch in einem wesentlich größeren Dosisbereich bestätigen lassen.

ZUSAMMENFASSUNG

In Untersuchungen mit ^{3}H-markierten Glykosiden wurde das pharmakokinetische Verhalten von Digoxin und 8-Methyldigoxin bei isolierten, nicht zyklisch perfundierten Rattenlebern analysiert.

Dabei erfolgte zunächst eine Perfusion mit glykosidhaltiger Lösung unterschiedlicher Konzentrationen (Digoxin: 0,89 µg/ml und 0,02 µg/ml; 8-Methyldigoxin: 0,90 µg/ml und 0,08 µg/ml) und im Anschluß daran eine Durchströmung mit glykosidfreier Lösung.

Das ausfließende Medium wurde in Ein-Minuten-Intervallen gesammelt. Am Ende der Perfusionen wurde der Glykosidgehalt der homogenisierten Leber, der sezernierten Galle und der Einzelfraktionen des ausfließenden Mediums bestimmt. Die angefallenen Metabolite von Digoxin und 8-Methyldigoxin konnten mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie ermittelt werden.

Die pharmakokinetische Analyse erfolgte in der Weise, daß die Konzentrationswerte des während der glykosidfreien Perfusion ausfließenden Mediums durch nicht lineare Regression anhand eines Mikro-Computer-Programms approximiert wurden. Die gewonnenen Daten waren mit einem linearen offenen Zwei-Kompartimenten-Modell vereinbar.

Danach nahm der Digoxin-, bzw. 8-Methyldigoxingehalt des zentralen und peripheren Kompartiments während der Digitalisperfusionen zunächst schnell zu und näherte sich dann asymptotisch einem konstanten Wert. Nach 20 minutiger Perfusion lag der von der Leber retinierte Glykosidanteil für 8-Methyldigoxin bei 8,62 % (K_o = 20,25 µg/min), bzw. bei 24,55 % (K_o = 1,49 µg/min) und für Digoxin bei 15,58 % (K_o = 17,01 µg/min), bzw. bei 59,92 % (K_o = 0,34 µg/min). Nach Abbruch der Digoxin-, bzw. 8-Methyldigoxinperfusionen fiel der Glykosidgehalt der beiden Kompartimente biexponentiell ab.

Der von der applizierten Glykosidmenge metabolisierte Anteil betrug sowohl für Digoxin als auch für β-Methyldigoxin ca. 15 %. Im ausfließenden Medium fanden sich weitgehend die unveränderten Glykoside.

Die Ergebnisse zeigen, daß die isoliert perfundierte Rattenleber vor allem die unveränderten Herzglykoside speichert, wobei Digoxin in größerem Maße retiniert wird als β-Methyldigoxin. Darüberhinaus ergibt sich für beide Glykoside ein von der Dosis abhängiges Extraktionsverhalten der Leber. Dies ist nicht durch die Sättigung von Kapazitäten zweier Gewebsbindungsstellen bedingt, sondern hängt vom kinetischen Verhalten der Substanzen bei zwei sich im Gleichgewicht befindenden Kompartimenten ab.

LITERATUR

1. Abel, R.M., Luchi, R.J., Peskin, G.W., Conn, H.J., Miller, L.D.:
Metabolism of digoxin: Role of the liver in tritiated digoxin degradation.
J. Pharmacol. exp. Ther. 150, 463 (1965)

2. Allen, J.C., Schwartz, A.:
A possible biochemical explanation for the intensitivity of the rat to cardiac glycosides.
J. Pharmacol. exp. Ther. 168, 42 (1969)

3. Beermann, B.:
The gastrointestinal uptake of methyldigoxin-12α-^{3}H in man.
Europ. J. clin. Pharmacol. 5, 28 (1972)

4. Benet, L.Z.:
General treatment of linear mammillary models with elimination from any compartment as used in pharmacokinetics.
J. Pharm. Sci. 61, 536 (1972)

5. Bergmann, K.v., Abshagen, U., Rietbrock, N.:
Quantitative analysis of digoxin, 4'''-acetyldigoxin and 4'''-methyldigoxin and their metabolits in bile and urine of rats.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 273, 154 (1972)

6. Bodem, G., Wirth, K., Ochs, H.:
Die biologische Verfügbarkeit von Digoxin.
Inn. Med. 2, 110 (1975)

7. Cox, E., Wright, S.E.:
The hepatic excretion of digitalis glycosides and their genins in the rat.
J. Pharmacol. exp. Ther. 126, 117 (1959)

8. Dengler, H.J.:
Die Bedeutung der Pharmakokinetik für die Arzneimitteltherapie.
Internist 15, 13 (1974)

9. Dengler, H.J., Bodem, G., Wirth, K.:
Pharmakokinetische Untersuchungen mit ^{3}H-Digoxin und ^{3}H-Lanatosid C beim Menschen.
Arzneim. Forsch. 23, 64 (1973)

10. Doetsch, G.:
Anleitung zum praktischen Gebrauch der Laplace Transformation und der Z-Transformation.
3. Aufl. Oldenbourg, München 1967

11. Doherty, J.E., Perkins, W.H.:
Studies with tritiated digoxin in human subjects after intravenous administration.
Am. Heart J. 63, 528 (1962)

12. Doherty, J.E., Perkins, W.H., Mitchell, G.K.:
Tritiated digoxin studies in human subjects.
Arch. Intern. Med. 108, 531 (1961)

13. Dost, F.H.:
Grundlagen der Pharmakokinetik.
2. Aufl. Thieme, Stuttgart 1968

14. Evans, G.H., Wilkenson, G.R., Shand, D.G.:
The disposition of propranolol. IV. A dominant role for tissue uptake in the dosedependent extraction of propranolol by the perfused rat liver.
J. Pharmacol. Ther. 180, 447 (1973)

15. Genuit, H.:
Zur Frage der hohen Digitalisresistenz der Ratte. Untersuchung über die Glykosidspeicherung des isolierten Herzens am geschlossenen Coronarkreislauf.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Path. Pharmak. 188, 285 (1938)

16. Gibaldi, M.:
Effect of mode of administration on drug distribution in a two-compartment open system.
J. Pharm. Sci. 58, 327 (1969)

17. Gibaldi, M.:
Estimation of the pharmacokinetic parameters of the two-compartment open model from the post-infusion plasma concentration data.
J. Pharm. Sci. 58, 1133 (1969)

18. Gibaldi, M., Nagashima, R., Levy, G.:
Relationship between drug concentration in plasma or serum and amount of drug in the body.
J. Pharm. Sci. 58, 193 (1969)

19. Gillette, J.R.:
The importance of tissue distribution in pharmacokinetics.
J. Pharmacokin. Biopharm. 1, 497 (1973)

20. Gillette, J.R., Pang, K.S.:
Theoretical aspects of pharmacokinetic drug interactions.
Clin. Pharmacol. Ther. 22, 623 (1977)

21. Greenblatt, D.J., Koch-Weser, J.:
Clinical pharmacokinetics.
N. Engl. J. Med. 293, 702 - 705, 964 - 970 (1975)

22. Grosse-Brockhoff, F., Hausamen, T.U.:
200 Jahre Herztherapie mit Digitalis.
Dtsch. Med. Wschr. 100, 1980 (1975)

23. Harrison, L.I., Gibaldi, M.:
Pharmacokinetics of digoxin in the rat.
Drug Metab. Dis. 4, 88 (1976)

24. Herrmann, I., Repke, K.:
Entgiftungsgeschwindigkeit und Kumulation von Digitoxin bei verschiedenen Spezies.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Path. Pharmak. 247, 19 (1964)

25. Herrmann, I., Repke, K.:
Über eine neue Form der Konjugation von Geninen im tierischen Stoffwechsel.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Path. Pharmak. 243, 333 (1962)

26. Herrmann, I., Repke, K.:
Über das Glukoronsäurekonjugat eines Cardenolidgenins (3-Epi-digitoxigenin)
Experientia (Basel) 19, 472 (1963)

27. Höller, M., Breuer, H.:
Eine optimale Methode zur hämoglobinfreien Perfusion der isolierten Rattenleber.
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 12, 398 (1974)

28. Johnson, B.F., Bye, C.E., Jones, G.E., Sabey, G.A.:
The pharmacokinetics of beta-methyldigoxin compared with digoxin tablets and capsules.
Europ. J. clin. Pharmacol. 10, 231 (1976)

29. Jusko, W.J., Gibaldi, M.:
Effects of change in elimination on various parameters of the two-compartment open model.
J. Pharm. Sci. 61, 1270 (1972)

30. Kaihara, S., Leand, P.M.:
A possible mechanism of the species difference in digitalis toxicity.
Clin. Res. 15, No. 2, 209 (1967)

31. Kaiser, F.:
Die papierchromatographische Trennung von Herzgiftglykosiden
Chem. Ber. 88, 556 (1955)

32. Kolenda, K.D., Lüllmann, H., Peters, T., Seiler, K.U.:
Plasmaconcentration, uptake by liver and biliary excretion of tritiated cardiac glycosides in the isolated perfused guinea-pig liver.
Br. J. Pharmac. 41, 648 (1971)

33. Koup, J.R., Greenblatt, D.J., Jusko, W.J., Smith, T.W., Koch-Weser, J.:
Pharmacokinetics of digoxin in normal subjects after intravenous bolus and infusion doses.
J. Pharmacokin. Biopharm. 3, 181 (1975)

34. Koup, J.R., Jusko, W.J., Elwood, C.M., Kohli, R.K.:
Digoxin pharmacokinetics: Role of renal failure in dosage regimen design.
Clin. Pharmacol. Ther. 18, 9 (1975)

35. Krebs, H.A., Henseleit, K.:
Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper.
Hoppe-Seyer's Z. Physiol. Chem. 210, 33 (1932)

36. Krüger-Thiemer, E.:
Nonlinear dose-concentration relationships.
Farmaco Ed. sci. 23, 717 (1968)

37. Krüger-Thiemer, E.:
Continous intravenous infusion and multicompartment accumulation.
Europ. J. Pharmacol. 4, 317 (1968)

38. Kuschinsky, K.:
Über die Bindungseigenschaften von Plasmaproteinen für Herzglykoside.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. Exp. Path. 262, 388 (1969)

39. Lage, G.L., Spratt, J.L.:
^{3}H-digoxin metabolism by adult male rat tissues in vitro.
J. Pharmcol. exp. Ther. 149, 248 (1965)

40. Lage, G.L., Spratt, J.L.:
Species and sex variation in the hepatic metabolism of ^{3}H-digoxin in vitro.
J. Pharmacol. exp. Ther. 159, 182 (1968)

41. Lauterbach, F.:
Intestinal absorption and metabolism of cardiac glycosides.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. Exp. Path. 263, 26 (1969)

42. Lauterbach, F., Repke, K.:
Die fermentative Abspaltung von D-Digitoxose, D-Cymarose und L-Thevetose aus Herzglykosiden durch Leberschnitte.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Path. Pharmak. 239, 196 (1960)

43. Lauterbach, F., Repke, K.:
Über die Verteilung herzglykosidspaltender Fermente im tierischen Organismus.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Path. Pharmak. 240, 45 (1960)

44. Levy, G.:
Dose-dependant effects in pharmacokinetics. In importance of fundamental principles in drug evaluation.
Ed. by D.G. Tedeschi and R.E. Tedeschi
Raven Press, New York 1968

45. Loo, J.C.K., Riegelmann, S.:
Assessment of pharmacokinetic constants from postinfusion blood curves obtained after i.v. infusion.
J. Pharm Sci. 59, 53 (1970)

46. Marcus, F.I., Kapadia, G.J., Kapadia, G.G.:
The metabolism of digoxin in normal subjects.
J. Pharmacol. exp. Ther. 145, 203 (1964)

47. Mayersohn, M., Gibaldi, M.:
Mathematical methods in pharmacokinetics. II. Solution of the two-compartment open model.
Amer. J. pharm. Educ. 35, 19 (1971)

48. Ohnhaus, E.E., Spring, P., Dettli, L.:
Proteinbinding of digoxin in human serum.
Europ. J. clin. Pharmacol. 5, 34 (1972)

49. Okita, G.T., Talso, P.J., Curry, J.H., Smith, F.D., Geiling, E.M.K.:
Metabolic fate of radioactive digoxin in human subjects.
J. Pharmacol. exp. Ther. 115, 371 (1955)

50. Pang, K.S., Rowland, M.:
Disposition of lidocaine in the perfused liver in situ preparation: Discrimination between two models of hepatic drug clearance.
122nd Meeting of Am. Pharm. Assoc. (San Francisco), 1975

51. Perrier, D., Gibaldi, M.:
Relationship between pharma or serum drug concentration and amount of drug in the body at steady state upon multiple dosing.
J. Pharmacokin. Biopharm. 1, 17 (1973)

52. Perrier, D., Gibaldi, M.:
Clearance and biologic half-life as indices of intrinsic hepatic metabolism.
J. Pharmacol. exp. Ther. 191, 17 (1974)

53. Rennekamp, H., Rennekamp, Ch., Abshagen, U., Bergmann, K.v., Rietbrock, N.:
Pharmacokinetic behaviour of 4'''-methyldigoxin in man.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 273, 172 (1972)

54. Repke, K.:
Verteilung, Ausscheidung und Stoffwechsel von Digoxin bei der Ratte.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Path. Pharmak. 233, 271 (1958)

55. Repke, K.:
Über Spaltung und Hydroxylierung von Digitoxin bei der Ratte.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Path. Pharmak. 237, 34 (1959 a)

56. Repke, K.:
Die Bis- und Mono-digitoxide des Digitoxigenins und Digoxigenins: Metabolite des Digitoxins.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Path. Pharmak. 237, 155 (1959 b)

57. Repke, K.:
Stoffwechsel und Wirkung von Digitalisglykosiden.
Öst. Apoth.-Ztg. 24, 515 (1970)

58. Repke, K., Est, M., Portius, H.J.:
Über die Ursache der Speziesunterschiede in der Digitalisempfindlichkeit.
Bioch. Pharmacol. 14, 1785 (1965)

59. Rescigno, A., Segre, G.:
Drug and tracer kinetics.
Blaisdell Publ. Comp., Waltham, Mass., Toronto, London 1966; translated from the Italian edition, Editore Bringhieri, Torino 1961

60. Riegelmann, S., Loo, J.C.K., Rowland, M.:
Shortcomings in pharmacokinetic analysis by conceiving the body to exhibit properties of a single compartment.
J. Pharm. Sci. 57, 117 (1968)

61. Rietbrock, N., Abshagen, U.:
Stoffwechsel und Pharmakokinetik der Lanataglykoside beim Menschen.
Dtsch. Med. Wschr. 98, 117 (1973)

62. Rietbrock, N., Abshagen, U., Bergmann, K.v., Kewitz, H.:
Pharmacokinetics of digoxin and its 4'''-acetyl- and methyl-derivates in the rat.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 274, 171 (1972)

63. Rietbrock, N., Rennekamp, Ch., Rennekamp, H., Bergmann, K.v. Abshagen, U.:
Demethylation and cleavage of glycosidic bonds of 4'''-methyl-digoxin in man.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 272, 450 (1972)

64. Riggs, D.S.:
The mathematical approach to physiological problems.
Williams and Wilkins, Baltimore, Md., 1963

65. Rowland, M.:
Application of clearance concepts to some literature data on drug metabolism in the isolated perfused liver preparation and in vivo.
Europ. J. Pharmacol. 17, 352 (1972)

66. Rowland, M., Benet, L.Z., Graham, G.G.:
Clearance concepts in pharmacokinetics.
J. Pharmacokin. Biopharm. 1, 123 (1973)

67. Sidell, F.R., Groff, W.A., Kaminskis, A.:
Toxogonin and pralidoxine: kinetic comparison after intravenous administration to man.
J. Pharm. Sci. 61, 1765 (1972)

68. Scholtan, W., Schlossmann, K., Rosenkranz, H.:
Bestimmung der Eiweißbindung von Digitalis-Präparaten mittels Ultrazentrifuge.
Arzneim.-Forsch. 16, 109 (1966)

69. Shand, D.G., Kornhauser, D.M., Wilkinson, G.R.:
Effects of route of administration and blood flow on hepatic drug elimination.
J. Pharmacol. exp. Ther. 195, 424 (1975)

70. Teorell, T.:
Kinetics of distribution of substances administered to the body. I. The extravascular modes of administration.
Arch. Int. Pharmacodyn. 57, 205 (1937 a)

71. Teorell, T.:
Kinetics of distribution of substances administered to the body. II. The intravascular modes of administration.
Arch. Int. Pharmacodyn. 57, 226 (1937 b)

72. Voigtländer, W., Schaumann, W., Koch, K., Zielske, F.:
β-methyl-digoxin. IV. Blood levels, tissue distribution and metabolism in the guinea-pig.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 272, 46 (1972)

73. Wagner, J.G.:
Appraisal of digoxin bioavailability and pharmacokinetics in relation to cardiac therapy.
Amer. Heart J. 88, 133 (1974)

74. Wagner, J.G.:
Fundamentals of clinical pharmacokinetics.
Drug Intelligence Publications, Hamilton Ill., 1975

75. Wagner, J.G., Northam, J.I.:
Estimation of volume of distribution and half-life of a compound after rapid intravenous injektion.
J. Pharm. Sci. 56, 531 (1967)

77. Wagner, J.G., Northam, J.I.:
Lag time before essentially constant urinary excretion rate is attained.
J. Pharm. Sci. 57, 994 (1968)

78. Wildmeister, W., Strobach, H., Greeff, K., Horster, F.A.:
Zur Pharmakokinetik von Digoxin, Acetyldigoxin und Methyldigoxin bei Gesunden und bei Kranken.
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 79, 1037 (1973)

79. Wilkinson, G.R., Shand, D.G.:
A physiological approach to hepatic drug clearance.
Clin. Pharmacol. Ther. 18, 377 (1975)

80. Wirth, K., Bodem, G., Dengler, H.J.:
Kinetik und Stoffwechsel von Digoxin und verwandten Herzglykosiden beim Menschen.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. Exp. Path. 269, 427 (1971)

81. Wong, K.C., Spratt, J.L.:
Conversion of digoxin to digoxigenin by liver tissue in vitro.
Biochem. Pharmacol. 13, 489 (1964)

82. Wright, S.E.:
The metabolism of cardiac glycosides
Thomas, Springfield 1960

83. Zilly, W., Richter, E., Rietbrock, N.:
Pharmacokinetics and metabolism of digoxin and beta-methyl-digoxin-12α-^{3}H in patients with acute hepatitis.
Clin. Pharmacol. Ther. 17, 302 (1975)

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. H.J. Dengler als dem Initiator dieser Arbeit sowie Herrn Prof Dr. G. Bodem für seine Betreuung und intensive Förderung. Weiterhin sei Herrn Dr. M. Höller vom Institut für Klinische Biochemie für die bereitwillige Unterstützung bei der Durchführung der Versuche gedankt.

LEBENSLAUF

Am 27. August 1952 wurde ich als Sohn des Bauingenieurs Albert Greulich und seiner Ehefrau Helene, geb. Rahn, in Karlsruhe geboren.
Von Ostern 1960 bis 1964 besuchte ich die Grundschule in Karlsruhe-Weiherfeld, danach den mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig des neusprachlichen Gymnasiums in Ettlingen. Die Gymnasialzeit endete am 14. Juni 1972 mit dem Abitur.

Zum Sommersemester 1973 begann ich mit dem Studium der Medizin an der Universität Mainz und setzte es zum Wintersemester 1975/76 an der Rheinischen-Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn fort. Nach vier vorklinischen Semestern legte ich am 21. März 1975 das Physikum ab. Der erste Abschnitt der ärztlichen Prüfung folgte am 30. März 1976 und der zweite Abschnitt am 31. August 1978.

Nach Absolvierung des praktischen Jahres an der Universitätsklinik Bonn schloß ich mein Studium mit dem dritten Abschnitt der ärztlichen Prüfung am 22. Oktober 1979 ab.

Seit dem 25. März 1977 bin ich mit Ursula Greulich, geb. Brinkmann, verheiratet.